

**T.C.
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
GIDA TEKNOLOJİSİ BİLİM DALI**

**ULTRASOUND TEKNOLOJİSİNİN KREM PEYNİR
KALİTESİ VE KREM PEYNİRDEKİ OLASI
SİKLOPIAZONİK ASİT MİKOTOKSİNİ DÜZEYİ
ÜZERİNE ETKİLERİ**

İsmail BÖLÜK

**Danışman
Doç. Dr. Özlem TOKUŞOĞLU**



MANİSA-2015

**T.C.
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
GIDA TEKNOLOJİSİ BİLİM DALI**

**ULTRASOUND TEKNOLOJİSİNİN KREM PEYNİR
KALİTESİ VE KREM PEYNİRDEKİ OLASI
SİKLOPIAZONİK ASİT MİKOTOKSİNİ DÜZEYİ
ÜZERİNE ETKİLERİ**

İsmail BÖLÜK

**Danışman
Doç. Dr. Özlem TOKUŞOĞLU**



MANİSA-2015

TEZ ONAYI

İsmail BÖLÜK tarafından hazırlanan "**ULTRASOUND TEKNOLOJİSİNİN KREM PEYNİR KALİTESİ VE KREM PEYNİRDEKİ OLASI SİKLOPIAZONİK ASİT MİKOTOKSİNİ DÜZEYİ ÜZERİNE ETKİLERİ** " adlı tez çalışması 28/12/2015 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri önünde Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman	Doç. Dr. Özlem TOKUŞOĞLU Celal Bayar Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Faruk BOZOĞLU Orta Doğu Teknik Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Yrd. Doç. Özlem ÇAĞINDI Celal Bayar Üniversitesi	

TAAHHÜTNAME

Bu tezin Celal Bayar Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde, akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

İsmail BÖLÜK

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	I
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	III
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IV
TABLO DİZİNİ	VI
TEŞEKKÜR.....	VII
ÖZET.....	VIII
ABSTRACT.....	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Ultrasound Teknolojisi	3
2.1.1. Ultrasound Tanımı ve Sınıflandırılma	3
2.1.2. Ultrasound İşleminin Sınıflandırılması.....	3
2.1.2.1. Düşük Güçlü (Güç, Yoğunluk) - Yüksek Frekanslı	3
2.1.2.2. Yüksek Güçlü-Düşük Frekanslı Ultrasound.....	4
2.1.3. Ultrasound İşleminin Sistem Bileşenleri	5
2.1.4. Ultra ses İşleminin Etki Mekanizması	6
2.1.4.1. Ultrasound uygulamalarında önemli proses parametreleri	9
2.1.5. Ultrasound İşleminin Süt Ve Süt Ürünlerinde Kullanımı.....	9
2.2. Mikotoksinler	13
2.2.1. CPA (Siklopiazonikasit)	15
2.2.1.1. Siklopiazonik Asidin Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri.....	15
2.2.1.2. Siklopiazonik Asidin Biyolojik Etkileri	16
2.2.1.3. Siklopiazonik Asidin Toksikolojik Özellikleri	17
2.2.1.4. Bitkiler, Hayvanlar ve Hayvansal Ürünlerde Siklopiazonik Asit.....	18
2.2.2. Siklopiazonik Asidin Tayint Yöntemleri	20
2.2.2.1. Enzime Dayalı Yöntem (ELİSA).....	20
2.2.2.2. Ekstraksiyonu, Saflaştırılması ve Miktarının Saptanması	20
2.2.3. Süt ve Süt Ürünlerinde CPA.....	21
2.2.3.1. Peynir Üretiminin Siklopiazonik Asit Üzerine Olan Etkisi.....	22
2.2.3.2. Sütün Kurutulması ve Konsantre Hale Getirilmesi	22
2.2.4. CPA Hakkında Genel Değerlendirme.....	22
2.3. Krem Peynir	23
2.3.1. Krem Peynir Üretim Basamakları.....	24
2.3.1.1. Doğal Peynir Seçimi	25
2.3.1.2. Katkı Maddelerinin Seçimi Ve Kombinasyonu	25
2.3.1.3. Emülsüfiye Edici Tuzların Ve Çeşitli Katkı Maddelerinin İlavesi	26
2.3.1.4. Isıl İşlem	27
2.3.1.5. Homojenizasyon (Opsiyonel)	28
2.3.1.6. Paketleme.....	28
2.3.1.7. Soğutma	28
2.3.1.8. Depolama	29
2.3.2. Krem Peynirlerde Görülen Bozulmalar	29
2.4. Tezin Amacı	29
3. MATERYAL VE YÖNTEMLER.....	30
3.1. Materyal.....	30

3.1.1. Standart Mikotoksin Çözeltisinin Hazırlanması	30
3.2. Metot	30
3.2.1. Krem Peynir Üretiminde Ultrasound Teknolojisinin Uygulanması	30
3.2.2. Krem Peynir Örneklerine Belirli Konsantrasyon Aralıklarında Siklopiazonik Asit Yükleme ile Kontaminasyon Ve Ultrasound Uygulaması	31
3.2.3. Ekstraksiyon	34
3.2.4. LC-MS	36
3.2.5. Üretilen Peynir Örneklerindeki Kalite Karakteristiklerinin Belirlenmesi İçin Analize Hazırlanması	38
3.2.6. Üretilen Peynir Örneklerindeki Kalite Karakteristiklerinin Belirlenmesi	38
3.2.6.1. Toplam Kuru Madde, Yağ, Protein Miktarları	39
3.2.6.2. pH Değeri	39
3.2.6.3. Renk Değeri	39
3.2.6.4. Tektürel Analizler	39
3.2.6.5. Mikrobiyolojik Analizler	40
3.2.6.6. İstatistiksel Analizler	41
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	42
4.1. CPA Bulguları	42
4.1.1. Üretilen Krem Peynirlerde CPA Varlığının Tesbiti	42
4.1.2. Üretim Aşamasında CPA Katma (Spiking) Sonrası Ultrasound Uygulamasının Niteliğinin Değerlendirilmesi	50
4.2. Peynir Örneklerinin Fizikokimyasal Özelliklerinin Ultrasound ile Değişimi	53
4.2.1. Kurumadde İçeriği	53
4.2.2. Yağ İçeriği	54
4.2.3. Protein Miktarları	56
4.2.4. pH Değerleri	57
4.2.5. Renk Değerleri	58
4.2.5.1. L^* Değerleri	59
4.2.5.2. a^* Değerleri	60
4.2.5.3. b^* Değerleri	61
4.3. Krem Peynir Örneklerinin Mikrobiyolojik Özellikleri	62
4.3.1. Toplam Koliform Grubu Bakteriler Ve E.Coli	62
4.3.2. Toplam Maya-Küf	63
4.3.3. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayısı	64
4.3.4. <i>Enterobacter</i>	65
4.4. Sürülebilir Krem Peynirlerin Tekstür Parametreleri	65
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	70
KAYNAKLAR	72
ÖZGEÇMİŞ	76

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

US	Ultrasound
LC-MS	Likit Kromotografi /Kütle Spektrometresi
W	Watt
kHz	Kilohertz
Kob	Koloni Oluşturabilen Organizma
β-LG	Beta Laktoglobülin
α-LA	Alfa Laktalbümin
CPA	Siklopiazonik Asit
LD₅₀	Öldürücü Doz
GC-MS	Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi
TGK	Türk Gıda Kodeksi
TS	Termosonikasyon
US	Ultrasound
MTS	Monotermosonikasyon
PST	Peynir Altı Suyu Tozu
dk.	Dakika
TMAB	Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri
TMK	Toplam Maya Küf
ort.	Ortalama
Sn.	Saniye
g	Gram
µg	Mikrogram
SN	Saptanamadı
PST	Peynir Altı Suyu Tozu

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Ultrasoundun gıdalarda uygulandığı frekans aralığı.....	4
Şekil 2.2. Piezo elektrik dönüştürücü ultrasound düzeneği	5
Şekil 2.3. Ultrasonik banyo düzeneği	6
Şekil 2.4. Akustik kavitasyon oluşumu.....	7
Şekil 2.5. Akustik kavitasyon sırasında baloncuk oluşumu.....	8
Şekil 2.6. Ultrasoundun hücreler üzerine etkisi	11
Şekil 2.7. Siklopiazonik Asit.....	16
Şekil 2.8. Emülsüfiye edici tuzların kalsiyum iyonları dolayısıyla kazein agregatlarına olan etkisi	26
Şekil 3.1. Krem Peynirlere CPA katma (Spiking) uygulaması.....	32
Şekil 3.2. Katma uygulanmış örnekler	33
Şekil 3.3. Katma uygulanmış örneklere ultrasound uygulaması.....	34
Şekil 3.4. Siklopiazonik asitin ekstraksiyon aşamasında kullanılan cihazlar	35
Şekil 3.5. CPA analizi için krem peynir örneklerine uygulanan ekstraksiyon yöntemi.....	36
Şekil 3.6. Analizde kullanılan LC-MS Cihazı	36
Şekil 3.7. CIE renk skalası ve renk ölçümü	39
Şekil 3.8. TA-XT Plus tekstür analiz cihazı.....	39
Şekil 3.9. Mikrobiyal ekimlerimizden bir kesit	41
Şekil 4.1. CPA'nın 10 ve 20 ppb LC-MS kalibrasyonları	44
Şekil 4.2. CPA'nın 50 ve 100 ppb LC-MS kalibrasyonları	45
Şekil 4.3. CPA'nın 200 ve 2 ppb LC-MS kalibrasyonları	46
Şekil 4.4. Krem peynirlerde CPA analizi.....	47
Şekil 4.5. Kontrol (US uygulanmamış) ve ultrasound uygulanmış krem peynirlerde LC-MS ile belirlenen CPA düzeyleri.....	48
Şekil 4.6. CPA katılmış örneklerde US muamelesi ile meydana gelen yüzde değişimler.....	52
Şekil 4.7. Krem peynirlerde temel bileşen kompozisyonunun farklı sürelerde US ile değişimi.....	53
Şekil 4.8. Farklı sürelerde ultrasound uygulanmış krem peynir örneklerinin kuru madde miktarları	54
Şekil 4.9. Farklı sürelerde ultrasound uygulanmış krem peynir örneklerinin kuru maddede bulunan yağ oranları.....	55
Şekil 4.10. Farklı sürelerde ultrasound uygulanmış krem peynir örneklerinin protein miktarları	56
Şekil 4.11. Farklı sürelerde ultrasound uygulanmış krem peynir örneklerinin pH değerleri.....	57
Şekil 4.12. Krem peynir örneklerinde ultrasound uygulama süresi ile L^* değerlerinde meydana gelen değişim.....	59
Şekil 4.13. Krem peynir örneklerinde ultrasound uygulama süresi ile a^* değerlerinde meydana gelen değişim.....	60
Şekil 4.14. Krem peynir örneklerinde ultrasound uygulama süresi ile b^* değerlerinde meydana gelen değişim.....	61
Şekil 4.15. US uygulanmış krem peynirlerin testürel parametrelerinin incelenmesi oluşan pik.....	66
Şekil 4.16. Uygulama sürelerine göre konsistenste görülen değişimler.....	67

Şekil 4.17. Uygulama sürelerine göre yapışkanlıkta görülen değişimler.....	67
Şekil 4.18. Uygulama sürelerine göre sertlikte görülen değişimler.	68
Şekil 4.19. Uygulama sürelerine göre viskozitede görülen değişimler.....	69

TABLO DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1. Ultrasound uygulamaları	10
Tablo 2.2. Bazı mikotoksinler ve mikotoksikozlar	15
Tablo 2.3. Siklopiazonik asidin akut toksisitesi.....	17
Tablo 2.4. Siklopiazonik asit kaynaklı kayıt altına alınan zehirlenmeler	18
Tablo 2.5. CPA'nın bitkisel ürünlerde ve peynirlerde oluşumu	19
Tablo 2.6. Eritme Peynirlerinin Tipik Kompozisyonu.....	24
Tablo 2.7. Krem peynir üretiminde kullanılan gıda maddeleri ve tat ajanları	27
Tablo 3.1. CPA Tesbitinde LC-MS analizi metodolojisi.....	38
Tablo 4.1. CPA standard maddesinin HPLC kalibrasyonu.....	43
Tablo 4.2. Krem peynirlerde CPA düzeyi	47
Tablo 4.3. Beyaz ve süzme peynirlerde CPA düzeyleri.....	49
Tablo 4.4. CPA katılmış örneklerde US muamelesi ile meydana gelen değişimler	51
Tablo 4.5. Kimyasal analiz sonuçları.....	53
Tablo 4.6. Farklı güç ve sürelerde ultrasound uygulanmış numunelerin ve kontrolün renk özelliklerinin (L^* , a^* , b^*) kıyaslanması	58
Tablo 4.7. Mikrobiyolojik analiz sonuçları.....	62
Tablo 4.8. Tekstür parametreleri sonuçları	66

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında bana destek olan, bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren danışman hocam Sayın Doç. Dr. Özlem TOKUŞOĞLU' na, çalışmalarım sırasında teknik desteğini her zaman hissettiğim Ali GÜLER'e, tezimin üretim safhasında desteklerinden dolayı Ekiciler Süt Gıda Tarım Hayvancılık Sanayi Ve Ticaret Anonim Şirketi (Ekici Peynir) kalite müdürü Mustafa SOLAK'a, Seyyidoğlu Ultrasonik Çözümler şirketi ortaklarından E. Ferhan SEYYİDOĞLU' na öğrenim hayatım boyunca beni maddi ve manevi olarak destekleyen ve hep yanımda olan aileme yürekten teşekkür ederim.

İsmail BÖLÜK
Manisa, 2015

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Ultrasound Teknolojisinin Krem Peynir Kalitesi Ve Krem Peynirdeki Olası Siklopiazonik Asit Mikotoksini Düzeyi Üzerine Etkileri

İsmail BÖLÜK

Celal Bayar Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Özlem TOKUŞOĞLU

Krem peynir diğer peynir çeşitlerine göre farklı bir üretim yöntemine sahiptir. Krem peynir direkt süttten elde edilmeyip içerisinde üretim tekniğine göre süt ürünleri (lor, peynir altı suyu tozu), eski peynirler ve eritme tuzları içermektedir. Pürüzsüz ve homojen bir tekstüre sahip olması için bileşenler 98°C de 15 dk. süreyle ısıtıl işleme tabi tutulmaktadır.

Ultrasound insan kulağının algılayabileceği limitlerin ötesinde frekanslara sahip olan ses dalgalarının uygulamasından oluşmaktadır. Frekansın ayarlanması ile yiyecek ve içecek sektörlerinin de dahil olduğu pek çok endüstriyel uygulamalarda kullanılabilmektedir. Düşük güç (yüksek frekans) ultrasound uygulamaları gıdaların kalite ve özelliklerinin geliştirilmesinde önem arz eden kimyasal kompozisyon, ürün ve gıda bileşenlerinin izlenmesinde kullanılmaktadır.

Siklopazonik asit (CPA) *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri tarafından ikincil metabolit ürün olarak kanserojenik, mutajenik, teratojenik etkileri olan bir mikotoksin olup peynirlerinde dâhil olduğu pek çok gıda ürününde ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu çalışmada ultrasound uygulanmış krem peynirlerin bazı kalite parametreleri (toplam kuru madde, pH, yağ, protein, renk, tekstür) belirlenmiş ve uygulama şartlarına göre ultrasoundun CPA üzerine olası inhibisyon etkileri ortaya konmuştur.

Ultrasound uygulama şartları belirlenmiş (1-3 dk. 2/100 ppb katma uygulanmış peynirlere 20 kHz, 100-120 W) krem peynirlerde 5µg/kg düzeyinde CPA belirlenmiştir. Krem peynirlerde bu konu ile ilgili hiçbir veriye rastlanılmamış olup elde edilen ilk veriler olma özelliğini taşımaktadır. 2 ppb/1 dk. ve 100 ppb/3 dk. ultrasound uygulanmış deney örneklerinde sırasıyla % 100 ve % 1,37'lik bir inhibisyon elde edilmiştir.

Örnek peynirlerde kimyasal kalite incelenmiş ve 3 dk. süreyle ultrasound uygulanmış örneklerde % 47,3 olan kuru madde oranı % 51,67'ye yükselmiş, kuru maddede % 49,68 olan toplam yağ % 47,41'e düşmüş ve istatistiksel açıdan anlamlı olarak % 13,28 olan protein seviyesinin % 13,88'e yükseldiği gözlenmiştir (p<0.05). pH (5,74) seviyelerinde yukarıda belirtilen koşullarda bir değişim olmamıştır (p<0.05). Ultrasound uygulanmış peynirlerin renk değişimleri de incelenmiş ve 3 dk.

uygulama yapılan peynirlerde ortalama L* renk değeri 91,58'den 90,69'a, a* renk değeri -3,03'den -2,75'e, b* renk değeri ise 18,73'den 16,83'e değişim göstermiştir (p<0.05).

Mikrobiyolojik olarak da örnekler incelenmiş olup 3 dk. uygulaması ile toplam canlı sayısının 20 kob/g'dan 10 kob/g'a % 50 oranında düştüğü gözlemlenmiştir. Tekstürel özelliklerinde meydana gelen değişimlere de bakılmış olup yukarıda belirtilen aynı uygulama şartlarında sertliğin, konsistensin ve yapışkanlığın azaldığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Peynir, ultrasound, kalite, siklopiazonik asit (CPA)

2015, 76 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

Effects Of Ultrasound Technology On Cream Cheese Quality And Possible Cyclopiazonic Acid Mycotoxin Level In The Cream Cheese

İsmail BÖLÜK

**Celal Bayar University
Graduate School of Applied and Natural Sciences
Department of Food Engineering**

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Özlem TOKUŞOĞLU

Processed cheese has a different production processes than the other cheese types. Cream cheeses are manufactured from not directly milk, but includes butter, old cheeses, milk products and emulsifier salts in the manufacturing conditions. It heats up to 98°C for 15 minutes and it has smooth and homogenous texture.

Ultrasound (US) is composed of sound waves with frequency beyond the limit of human hearing. By tuning frequency, it can be utilized in various industrial applications including food and beverages.. Low power (high frequency) ultrasound is used for monitoring the chemical composition and physicochemical quality of food components and products during processing and storage, which is crucial for controlling and improving the food properties and food quality.

The cyclopiazonic acid (CPA) is mycotoxin produced by *Aspergillus* and *Penicillium* species and this secondary metabolite has carcinogenic, mutagenic, teratogenic effects with economic losses for some food products including cheeses. In this current work, it was determined the overall quality of ultrasound (US) processed cheeses whereas the efficiency of possible CPA inhibition of US processing in the planned US applying conditions.

In processed cheeses, it was determined 5 µg/kg CPA through the applying US processing conditions (including 2 /100 ppb spiking at 20 kHz, 100-120 W for 1/3 minutes duration). No data could be found in this point and it was the first results obtained. Between the experimental sets, in the US applied conditions for 2 ppb/1 min and for 100 ppb/3 min, 100% and 1,37% of inhibition of CPA was obtained, respectively.

Chemical quality profile was determined. 47,3 % of dry matter changed to 51,67 % while 49,68 % of total fat level changed to 47,41 % and 13.28 % of protein level changed to 13,88 % by utilizing 3 minutes US processed cheeses. pH level (5.74) not altered in the above-mentioned conditions (p<0.05). In the processed samples, it was also performed the color property examinations. It was found that *L** color value changed from 91.58 to 90.69; *a** color value changed from -3.03 to -2.75 whereas *b** color value changed 18.73 to 16.83 by applying 3 minutes US processed cheeses (p<0.05).

Microbiological quality was performed and total count decreased from 20 cfu/g to 10 cfu/g with 3 minutes US applying. Textural quality was also revealed that decreasing was found for firmness, consistency, and cohesiveness by the same processing conditions.

Keywords: Cheese, ultrasound, quality, cyclopiazonic acid (CPA)

2015, 76 pages

1. GİRİŞ

Ses, nesnelerin titreşiminden meydana gelen ve uygun bir ortam içerisinde (hava, su vb.) bir yerden başka bir yere, sıkışma (kompresyonlar) ve genleşmeler (rarefactions) şeklinde ilerleyen bir dalgadır. Dolayısıyla ses, bir basınç dalgasıdır [1]. Ultrasound, katkı maddesi içermeksizin gıda kalitesinin ve doğal lezzetin korunabildiği ve tüketici talebine uygun olan gıda muhafazası metodu olarak alternatif bir nontermal (ısıl olmayan) inovatif gıda teknolojisidir. Ultrasound teknolojisi (US) gıda endüstrisinde, mikroorganizma ve enzimlerin inaktivasyonları, kristalleşme, kurutma, gazdan arındırma, ekstraksiyon, filtreleme, homojenizasyon, et yumuşatma, oksidasyon, sterilizasyon gibi alanlarda kullanım alanı bulmuştur. US ve basınç veya ısı kombinasyonu uygulamasıyla gıdalarda mikroorganizma ve enzimlerin hızlı inaktivasyonları mümkün olabilmektedir [1].

Ultrasound, gıda işletmesinde bir yardımcı olarak; materyallerin karıştırılmasında köpük oluşumunda, ya da yok edilmesinde, hava kaynaklı pudraların topaklaşmasında ve çökeltilmesinde, filtrelemenin etkinliğini geliştirmede, katı materyallerin kurutulması ve ekstraksiyon teknolojilerinde bir de meyve-sebze ürünlerinden geliştirilmiş ekstraksiyon yöntemiyle biyoaktif bileşenlerin elde edilmesinde kullanılmaktadır. Ultrasound uygulamalarının, basınç altında (manosonikasyon) ya da basıncın ısıl işlem kombinasyonu ile eş zamanlı uygulanması ile (manotermosonikasyon) mikrobiyal inaktivasyonun artışı sağladığı rapor edilmektedir [1, 2].

Peynir, lezzet verici maddeler veya starter kültür katılmış sütün peynir mayasıyla veya organik asitlerle pıhtılaştırılması, oluşan pıhtının kırılarak peynir altı suyundan uzaklaştırılması, baskılanması, şekil verilmesi ve tuzlanmasıyla elde edilen, çeşidine göre taze ya da olgunlaştırılmış halde tüketilen kendine özgü tadı, kokusu ve yapısı olan besleyici bir süt ürünüdür. Direkt süttten üretilen natürel peynirlerin aksine krem peyniri, genelde emülsifiye edici tuzların varlığında natürel peynirlerin ve diğer katkı maddelerinin kullanımıyla ısıl işlem, kesme kuvveti ve sürekli karıştırma yardımıyla üretilen homojen bir süt ürünüdür. Natürel peynire benzemeyen homojen özellik gösteren eritme peyniri, kesikli tip ve sürekli tip olmak üzere iki farklı şekilde genellikle çift cidarlı eritme ünitelerinde üretilmektedir.

Diğer farklı tip peynirlerin parçalanması ve eritilmesi ile üretilen krem peynirler istenilen ürünün çeşidine bağlı olarak krem peyniri üretiminde su, protein, yağ, emülsifiye edici tuz, tatlandırıcılar, renklendiriciler, koruyucular, çeşniler ve opsiyonel katkı maddeleride kullanılmaktadır [3].

Mikotoksinler, küfler tarafından oluşturulan, yemleri ve yem ham maddelerini tüketen hayvanlarda zehirlenmelere ve ölüme yol açabilen maddelerdir. Mikotoksinlerin insanlara geçmesi ise mikotoksin içeren bitkilerin veya hayvansal ürünlerin tüketilmesi ile gerçekleşebilmektedir [4]. Bir tür küf mikotoksini olan CPA ilk olarak *Penicillium cyclopium* cinsi kültürlerinden elde edilmiştir ve pek çok *Penicillium* ve *Aspercillus* türleri tarafından ikincil metabolit ürün olarak sentezlenmektedir [5]. Mikotoksinler süt ürünlerinde bulunması iki kaynaktan oluşmaktadır. Birincisi, süt veren hayvanlar tarafından tüketilen mikotoksin içeren yemlerin tüketilmesi ve yemlerdeki bu toksinlerin hayvan tarafından metabolize edilmesi ile metabolitlerin süte geçmesi sonucu sütün kontaminasyonu, diğeri ise süt ürününün direkt olarak küf kontaminasyonuna maruz kalması sonucu mikotoksin oluşturmastır [6]. CPA *Penicillium* türlerini gelişimini istendiği küflü peynirlerde ve istenmeden meydana gelen bulaşmalar sonucu peynirlerin olgunlaştırılması sırasında ikincil metabolit ürün olarak ortaya çıkabilmektedir. CPA'nın toksisitesi pek çok hayvan türünde çalışılmıştır. CPA hayvalarda kilo kaybına, diyareye, iç organlarda ve kaslarda bozulmaya ve kangrene, kemirgenlerde, domuzlarda, köpeklerde ölümlere neden olmaktadır [7]. Ancak literatürde CPA'nın insanlarla ilgili bir toksisite durumu yer almamaktadır, insanlar tarafından camembert peynirlerinin sekizde birlik parçasının tüketilmesiyle alınan 3-5 µg insan sağlığını tehdit edecek dozun çok çok altındadır ve farelerde ölüme neden olana dozun yaisısında (36mg/kg) çok altında bir değerdir [8].

Bu çalışma kapsamında, ultrasound prosesinin krem peynirlerin kalite özellikleri ve olası siklopiazonik asit (CPA) mikotoksin düzeyi üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ultrasound Teknolojisi

Ultrasound (sonikasyon); sözlük anlamı itibariyle, saniyede 20.000 veya daha fazla titreşim gerçekleştiren ses dalgaları ile enerji meydana getirilmesi olarak ifade edilmektedir. Genellikle gıdalarda, ultrasound düzeneği Şekil 2.1.'de gösterildiği gibi 20 kHz' den 10 MHz' e kadar değişen frekansları kullanmaktadır. Ultrasound uygulamalarının sınıflandırılması için üretilen ses alanının enerji miktarı en önemli ölçüttür [1,2].

2.1.1. Ultrasound; Tanımı ve Sınıflandırılma

Ses, nesnelerin titreşiminden meydana gelen ve uygun bir ortam içerisinde (hava, su vb.) bir yerden başka bir yere, sıkışma (kompresyonlar) ve genişlemeler (rarefactions) şeklinde ilerleyen bir dalgadır. Dolayısıyla ses, bir basınç dalgasıdır.

Ultrasound Şekil 2.1.'de de görüldüğü gibi insan kulağının duyabileceği frekansın üzerinde (>16 kHz) genellikle >20 kHz'ın üzerindeki frekanslarda (genellikle 20 kHz -10 MHz arasında) sıvı, katı ve gaz ortamlardan geçebilen ses dalgaları olarak tanımlanmaktadır [9, 10].

Ultrasound üç ayrı parametre ile karakterize edilmektedir;

Ses gücü (W)

Ses yoğunluğu (W/cm^2)

Ses enerjisi yoğunluğu ise ($W.s/m^3$)

2.1.2. Ultrasound İşleminin Sınıflandırılması

Ultrasound işlemini uygulamalara göre ikiye ayrılır;

2.1.2.1. Düşük Güçlü (Güç, Yoğunluk) - Yüksek Frekanslı

Düşük güçlü yüksek frekanslı ultrasound işlemi 100 kHz ve üzeri frekanslarda ve $10 W/cm^2$ 'nin altındaki enerji yoğunluğunda uygulanmaktadır [1, 2].

Düşük güçlü ultrasound işleminde ortamdan geçen ses dalgaları materyal içinde önemli fiziksel ve kimyasal değişikliğe sebep olmamaktadır. Genellikle gıda maddelerinin bileşimi ve fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Düşük güçlü ultrasound işleminin basit, hızlı, kesin, ucuz ve yıkıcı olmayan analitik metot olarak kullanımı artmaktadır. Düşük güçlü ultrasound işlemi

gıda ürünlerinde ve içeceklerde; şeker ve alkol oranı, ette yağ oranı, meyve ve sebzelerin karakterizasyonu, yumurtanın kalitesi, peynirlerin mekanik özellikleri, bisküvinin tekstürü, sütün koagülasyonu, şarapta fermentasyon kontrolü, kavunun şeker içeriği, katı yağ indeksi ve hamurun fermantasyonunun kontrolü gibi amaçlarla kullanılmaktadır [11].

2.1.2.2. Yüksek Güçlü-Düşük Frekanslı Ultrasound

Yüksek güçlü-düşük frekanslı ultrasound işlemi 20-100 kHz aralığındaki frekanslarda ve 10-1000 W/cm² enerji yoğunluğunda kullanılmaktadır [10]. Yüksek güçlü ultrasound fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal etkilere sahiptir ve çeşitli gıdaların fizikokimyasal özelliklerini modifiye ederken proses esnasında gıda sistemlerinin kalitesini artırmaktadır. Düşük frekanslı ultrasound işleminin ana etki mekanizması kavitasyon oluşumudur. Sıvı bir ortamda yüksek güçlü ultrasoundu etkileyen en önemli parametreler;

1. Ultrasound uygulanan ortamın özellikleri

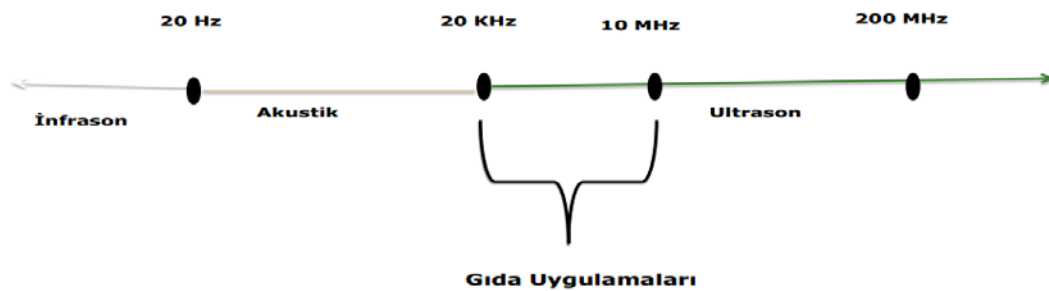
- Viskozite, yüzey gerilimi,
- Buhar basıncı,
- Çözülmüş gazın konsantrasyonu ve doğası,
- Katı partikül varlığı

2. İşlem parametreleri

- Sıcaklık,
- Basınç ,
- Uygulanan işlem süresi

3. Ultrasound üretici performansı (frekans, dalga büyüklüğü ve güç girişi),

4. İşlem uygulanan kabın geometrisi ve büyüklüğüdür [12].



Şekil 2.1. Ultrasoundun gıdalarda uygulandığı frekans aralığı [14]

Ultrasound işlemi diğer yöntemlerle kombine halde kullanıldığı zaman etkinliği (özellikle mikrobiyal ve enzimatik aktivasyon üzerinde) artmaktadır. Ultrasoundun kombine halde kullanıldığı yöntemler;

Termosonikasyon: Isı ile ultrasound işleminin birlikte kullanıldığı yöntemdir.

Manosonikasyon: Basınç ile ultrasound işleminin birlikte kullanıldığı yöntemdir.

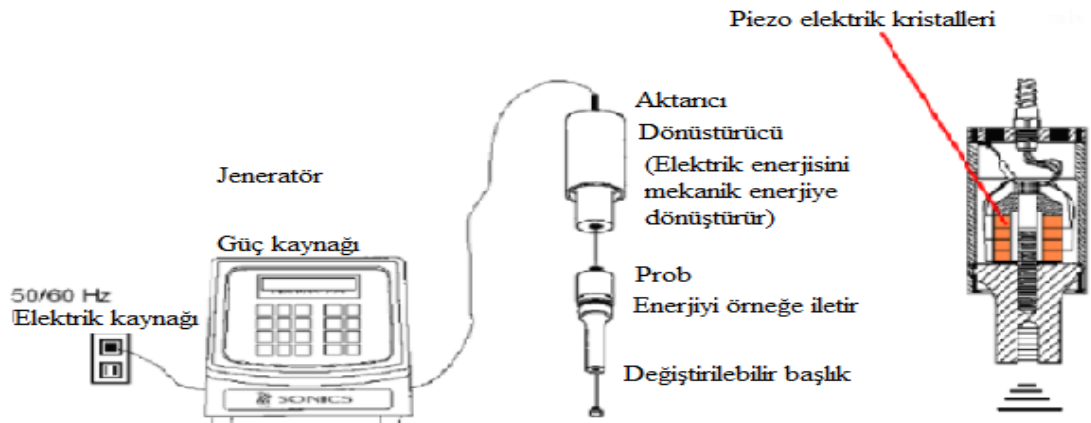
Manotermosonikasyon: Basınç, ısı ve ultrasound işlemlerinin birlikte kullanıldığı yöntemdir. Böylelikle sıvının kaynama noktası üzerindeki sıcaklıklarda dahi etkili bir şekilde uygulama gerçekleştirilebilmektedir [12]. Genel olarak kullanılan bu kombinasyonların yanında ultrasound ile pulse elektrik alan, pH ve antimikrobiyal kimyasallar da kullanılabilmektedir [13].

2.1.3. Ultrasound İşleminin Sistem Bileşenleri

Ultrasound sistemini oluşturan ana parçalar Şekil 2.2.'de görüldüğü gibi;

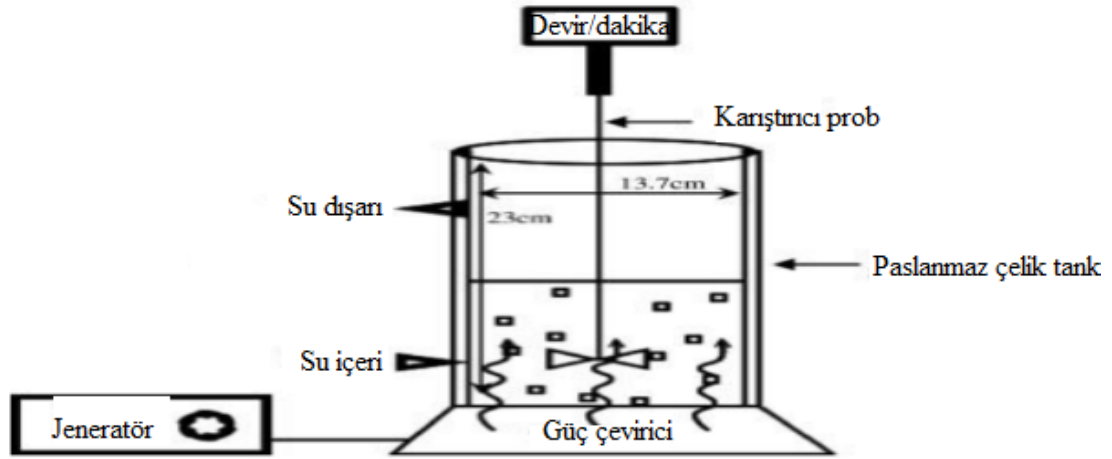
- Jeneratör,
- Dönüştürücü ve
- İletici kısımdır [9].

Jeneratör ya da elektrik kaynağı, alternatif akımı dönüştürücünün kullanabileceği yüksek frekanslı alternatif akıma çevirmektedir. Dönüştürücü yüksek frekanslı elektrik akımını mekanik titreşimlere dönüştürmektedir. İletici kısımda ise mekanik titreşimler ultrasound işleminin uygulanacağı ortama iletilmektedir.



Şekil 2.2. Piezo elektrik dönüştürücü ultrasound düzeneği [1].

Şekil 2.3.'de görülen ultrasonik banyolar ve prob sistemleri ultrasound işleminde en fazla kullanılan, yüksek frekanslı sesi ortama iletmeye yarayan ileticilerdir. Ultrasonik banyolarda dönüştürücü tankın altına yerleştirilmiştir. Örnek ile direk temas söz konusu değildir. Prob sistemlerine kıyasla banyo sistemlerinde maliyet düşüktür. Tanklarda örnek hacmi büyük olduğundan ve kavitasyon etkisinin tanka zarar verebilmesinden dolayı uygulanan güç yoğunluğu düşük olmaktadır.



Şekil 2.3. Ultrasonik banyo düzeneği [14]

Prob sistemlerinde dönüştürücüye bağlı halde bulunan bir başlık bulunmaktadır. Başlığın uç kısmına farklı boyutlara sahip problar takılabilmektedir. Probların çapı değiştikçe uygulanan gücün yoğunluğu değişmektedir ve her prob için örnek hacmi farklı olmaktadır. Titanyum gibi aşınmaya dayanıklı maddelerle prob üretimi yapılmaktadır [11].

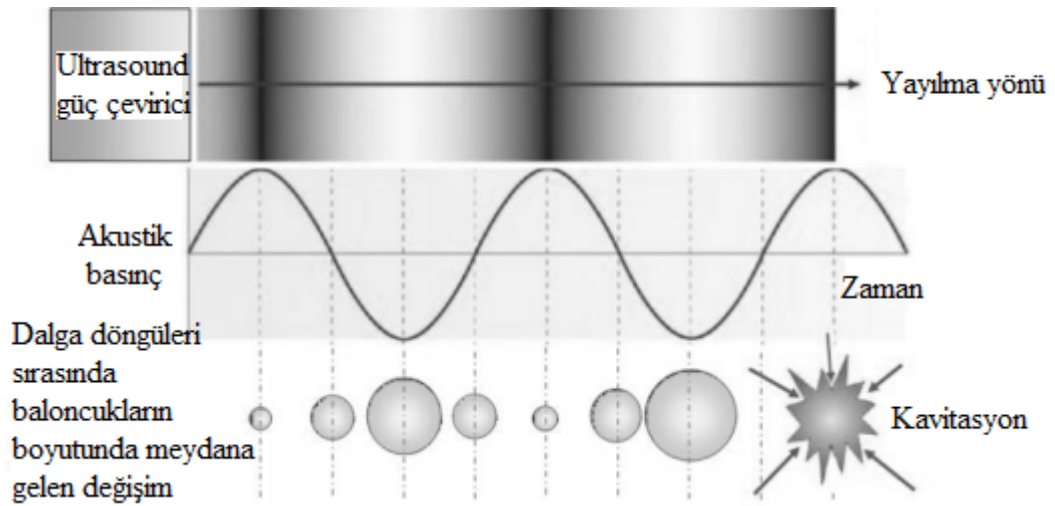
2.1.4. Ultrasound İşleminin Etki Mekanizması

Ses enerjisi sürekli dalga tipi bir hareket oluşturarak ortama girdiğinde, bu hareketin bir sonucu olarak boylamsal dalgalar oluşur ve bu durumda ortamdaki partiküller üzerinde bir sıkışma ve gevşeme yaratır. Ultrasound işlemi bir ortama uygulandığı zaman üç farklı etki meydana gelebilmektedir:

- 1- Mekanik titreşim oluşumu,
- 2- Akustik dalga oluşumu,
- 3- Akustik kavitasyon

Mekanik titreşim ve akustik dalga: Etkisi kavitasyonel olmayan fiziksel etki olarak sınıflandırılabilir. Uygulanan örnek içinde katı parçacıklar varsa mekanik titreşimler sayesinde bu parçacıklar parçalanabilmektedir. Akustik dalga etkisi sıvı içinde oluştuğunda kütle transferi artmaktadır. Bu iki etki sayesinde temizleme, ekstraksiyon ve dilimleme gibi uygulamaları gerçekleştirmek mümkün olabilmektedir [11].

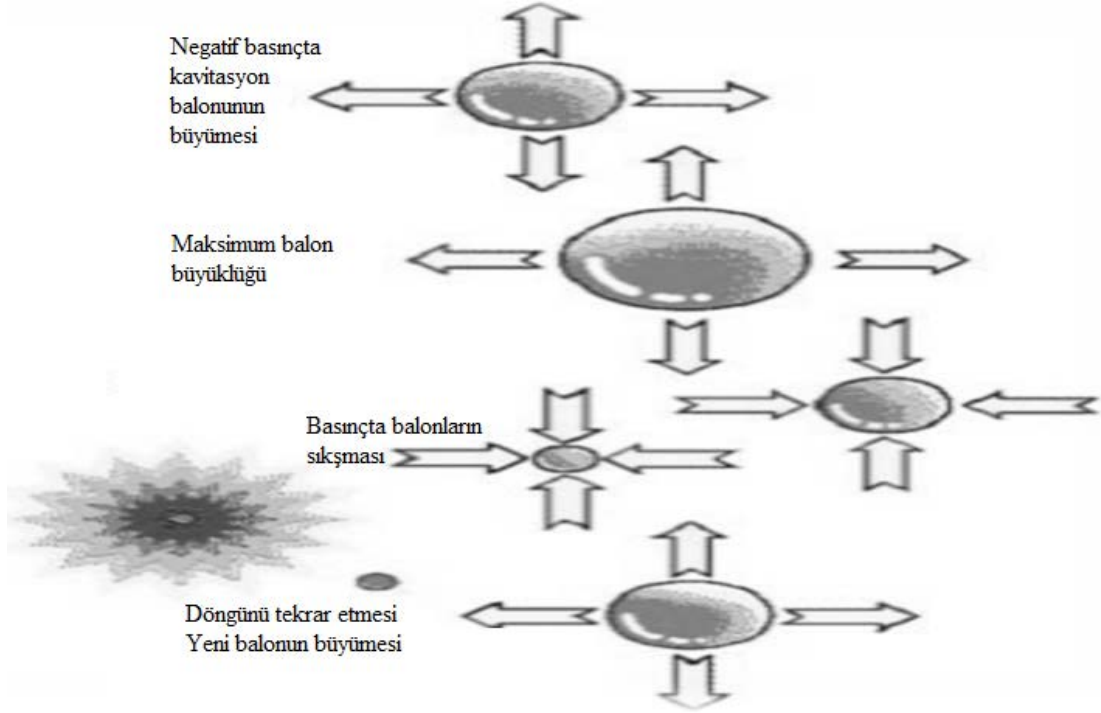
Akustik kavitasyon: Yüksek şiddetli ultrasound uygulamalarında görülen ana etkidir. Şekil 2.4. ve 2.5.'de görüldüğü gibi düşük basınçlı dalga oluşumu sırasında, ultrasonik dalgalar küçük vakum baloncuklar meydana getirirler ve bu baloncuklar daha fazla enerji absorblayamayacak hacme ulaştıklarında, yüksek basınçlı dalga oluşumu ortaya çıkar ve bu sırada içe doğru patlarlar. Bu olaya kavitasyon adı verilir.



Şekil 2.4. Akustik kavitasyon oluşumu [14]

- Baloncukların patlaması sırasında yüksek sıcaklık (1700-4700 °C) ve yüksek basınç (100 MPa) oluşmaktadır.
- Yüksek sıcaklık etkisiyle ortamda bulunan baloncukların içindeki su buharı ve gaz molekülleri (H_2O , O_2) arasında endotermik kimyasal reaksiyonlar (kimyasal etki) meydana gelmekte ve H , $\cdot OH$, $\cdot OH_2$, H_2O_2 gibi reaktif radikaller oluşmaktadır.

- Sonikasyon sırasında H_2O_2 üretimi sıcaklığa bağlıdır ve sıcaklık artınca azalmaktadır. Bu geçici reaktif gruplar karbonhidratlarla reaksiyona girmektedirler ve oksidasyon gerçekleşmektedir [12].



Şekil 2.5. Akustik kavitasyon sırasında baloncuk oluşumu [14]

- Düşük frekanslarda akustik kavitasyonunun güçlü fiziksel etkilerinden dolayı reaktif radikal oluşturma miktarı düşüktür, ancak yüksek frekansta oluşan zayıf fiziksel etkilerden dolayı önemli oranda kimyasal aktif radikaller oluşmaktadır.
- Kavitasyonun kimyasal etkilerinin yanı sıra kayma kuvveti, türbülans ve mikrojet gibi fiziksel etkileri de bulunmaktadır.
- Bu güçlü mekanik etkilerin sonucunda hidrolize olan ve kırılan çeşitli polisakkaritlerin moleküler ağırlığı azaldığında gıdanın reolojik özelliklerinde değişimler meydana gelmektedir.
- Süt endüstrisinde kavitasyonel fiziksel etkilerin oluşması istendiğinden ve radikal oluşumu istenmediğinden dolayı düşük frekanslı ultrasound işlemi tercih edilmektedir [11].

2.1.4.1. Ultrasound Uygulamalarında Önemli Proses Parametreleri

Basınç: Ultrasonik etki basınç dalgalarının elastik özelliklere sahip fiziksel bir ortamdan yayılması sonucu oluşmaktadır. Mekanik titreşimler mekanik basınç dalgalarına dönüşerek enerjiyi ortama ve ortamda dalgayla temas eden maddeye aktarmaktadır. Sıvı ortamlarda akustik alan ortamda bulunan moleküllerin orijinal pozisyonlarında titremesine neden olur ve ortamın basıncı uygulanan akustik basınçla birlikte artar. Moleküller sıkışır ve gevşer, gevşeme evresinde basınç azalır negatif değerlere gelir ve kritik seviyenin altına geldiğinde sıvı kırılarak boşluk veya kavitasyon oluşur.

Ses şiddeti ve Enerji: Şiddet (W/cm^2), üretilen ses dalgasının enerjisini ifade etmektedir. Şiddetin mutlak tanımı dalga tarafından birim alanda ve birim zamanda taşınan enerjidir. Enerji (kWh/L) ise hacim başına işlenen materyalin enerji girdisini ifade eder.

Sıcaklık ve viskozite: Sıcaklık sıvının buhar basıncı, yüzey gerilimi ve viskozitesini etkiler. Sıcaklık artışı kavitasyon kabarcıkları sayısını artırır [9].

2.1.5. Ultrasound İşleminin Süt Ve Süt Ürünlerinde Kullanımı

Ultrasound uygulamaları Tablo 2.1.'de görüldüğü gibi gıda sektöründe pek çok alanda kullanılmaktadır. Bunlardan biri olan sütlerde sütün mikrobiyal, kimyasal ve duyuşal özelliklerine US'nin etkisinin incelendiği ve bu özelliklerin termizasyon ve pastörizasyon işleminden sonra ultrasound işlemi uygulanan sütlerle karşılaştırmasının yapıldığı çalışmada çiğ süt, düşük sıcaklıkta kısa süre ısıtıl işlem uygulanmış süt ($55^{\circ}C$ sıcaklıkta 15 saniye ısıtıl işlem) ve homojenize pastörize süt ($75^{\circ}C$ sıcaklıkta 15 saniye ısıtıl işlem uygulanmış süt) kullanılmış, bu sütlerle ultrasound işlemi uygulanmıştır. Ultrasound işlemi; 24 kHz frekansta, 200 W güce sahip ultrasound cihazı ile gerçekleştirilmiştir. 200 ml örnek için 22 mm'lik prob kullanılmıştır. Ultrasound işlemi 0, 2, 4, 8 ve 16 dk. boyunca uygulanmıştır. Örneğin aşırı ısınmasını önlemek amacıyla örnek kabının etrafında buz-su banyosu kullanılmış ve örnek sıcaklığı uygulanan süreye bağlı olarak $15-25^{\circ}C$ arasında tutulmuştur. Toplam canlı sayısı ve psikrotrofik sayısı mikrobiyolojik olarak incelenmiştir.

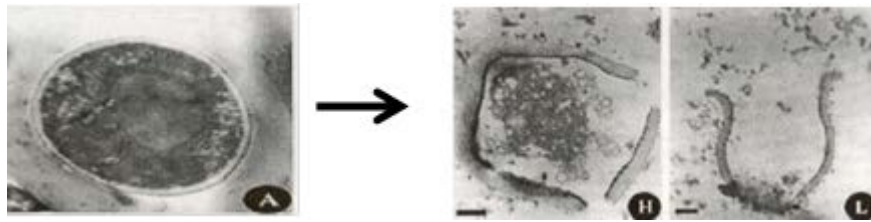
Analiz sonucunda; 3 örnek grubunun raf ömrünün artan ultrasound işlem süresi ile birlikte arttığı ve en az toplam canlı ve psikrotrofik sayısının geliştiği örnek

grubu olarak da pastörize süte ultrasound işleminin uygulandığı sütler olduğu belirtilmiştir. Şekil 2.6.'da US uygulamasının hücrelerde meydana getirdiği değişim temsili olarak gösterilmiştir. Çalışmaya göre ultrasound işleminin sütte bulunan mikrobiyal yükün azaltılmasında başarılı olmuştur. Aynı çalışmada elde edilen duyusal analiz sonuçlarına göre ultrasound işlemi uygulanan örnekler özellikle tat bakımından işlem uygulanmayan örneklerden düşük puanlar almıştır. Ultrasound işleminden sonra meydana gelen tat bozukluğunun tanımlanmasının zor olduğu fakat yanık ile yabancı tat arasında bir tanımlamanın yapıldığı belirtilmiştir [15].

Tablo 2.1. Ultrasound uygulamaları [16]

Uygulanan İşlem	Etki Mekanizması	Avantajları	Uygulanan Ürünler
Piştirme	Akustik akış ve kavitasyon sonucu ısı transferi geliştirilmesi	İşlem süresinin kısaltılması, Organoleptik kalitenin geliştirilmesi	Et ve sebzeler
Dondurma / Kristalizasyon	Akustik akış ve kavitasyon sonucu ısı transferinin geliştirilmesi	Difüzyonun geliştirilmesi, İşlem süresinin kısaltılması, Daha küçük ve stabil kristal oluşumu, Sıcaklığın hızla azaltılabilmesi	Et, sebze (patates), meyve (elma) ve süt ürünleri, palm çekirdeği yağı
Kurutma	Akustik akış ve kavitasyon sonucu kütle transferinin geliştirilmesi	İşlem süresinin ve son ürünün nem içeriğinin azaltılması, Organoleptik kalitenin geliştirilmesi	Kurtulmuş ürünler (meyve ve sebzeler-elma, kavun, muz, brüksel lahanası, karnabahar vb.)
Defoaming / Degassing	Kavitasyon	Ürün veriminin artışı ve düşük enerji kullanımı, Köpük oluşumunu engelleyen kimyasalları elimine edilmesi, Şişeleme hattındaki atıkların azaltılması	Süt, gazlı içecekler, bira
Filtasyon / Tarama	Bağlı tabakanın kavitasyon ile dağılması	İşlem süresinin kısaltılması, Kirlenmeyi azaltılması, Filtrasyon etkinliğinin artması	Meyve suları, şarap, bira, yemeklik yağlar
Emülsifikasyon / Homojenizasyon	Yüksek kayma mikro-akışının oluşması ve kavitasyon	Düşük maliyetli ve kısa sürede emülsiyon oluşumu, Emülsiyon stabilitesinin artırılması	Ketçap, mayonez, süt

Fermentasyon ve olgunlaştırma	Kavitasyon	İşlem süresinin kısaltılması, Metabolit oluşumunun artırılması	Alkollü ürünler (Şarap, bira, viski) Yoğurt
Kesme	Kavitasyon	İşlem süresinin kısaltılması, Üründe oluşan kayıpların azaltılması, Düzgün ve tekrarlanabilen kesme	Kek, peynir vb. kırılğan ürünler, taze ve donmuş gıdalar
Ekstraksiyon	Kavitasyonel etki ve akustik akış	Ekstraksiyon etkinliğinin ve verimin artırılması, GRAS çözücülerle çalışılabilme olanağı, Düşük proses sıcaklığında çalışılabilmesi	Bitkisel yağlar, protein, polisakkarit, biyoaktif bileşenler, biberiye (karnosik aist) vb.
Viskozite Değişikliği	Kavitasyonel etki	Katkı kullanımını azaltması, Ürünlerin işlevini farklılaştırabilmesi, Proteinlerin çözünürlük ve köpük oluşturma özelliklerinin artırılması	Serum proteinleri, Soya proteinleri
Enzimatik / Mikrobiyolojik İnaktivasyon	Kavitasyon	Ürünün kalitesini geliştirmek için düşük sıcaklıklarda inaktivasyon, İnaktivasyon oranını artırmak, Homojenliği artırmak ve enerji tasarrufu sağlamak	Pektinmetilesteaz glukoz oksidaz gibi enzimler <i>E.coli</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Saccharomyces</i>



Şekil 2.6. Ultrasoundun hücreler üzerine etkisi [14]

Villamiel ve de Jong süt enzimleri üzerine yaptıkları çalışmada, ultrasound işleminin yağlı ve yağsız sütte alkalın fosfataz, γ -glukomiltranspeptidaz, laktoperoksidaz enzimlerini inaktive etmekte yetersiz kaldığını ancak sıcaklık ile kullanıldığında sütte alkalın fosfataz ve γ -glukomiltranspeptidazı inaktive ettiğini, laktoperoksidazda ise belirli oranda inaktivasyon sağlandığını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada 75,5°C’de ultrasound uygulanması ile β -laktoglobulin (β -LG) ve α -

Laktalbumin (α -LA)'nin yağlı ve yağsız sütte denatüre edildiğini ve yağlı sütte denatürasyonun daha fazla gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Bu etki kuru maddenin yüksek protein oranının düşük olmasından kaynaklanabilmektedir. Kazeinlerin ise üçüncül ve dördüncül yapılarında değişiklik meydana gelebilirken ultrasoundun kazein misellerini tamamen yıkamadığı belirlenmiştir [16].

Jambrak ve ark. [17] serum proteini süspansiyonlarının özelliklerini belirlemek için 20, 40 ve 500 kHz'de 15 ve 30 dk. sonunda proteinlerin çözünabilirlik ve köpük oluşumu özelliklerini incelemişlerdir. Yüksek frekans bu özelliklerde değişim meydana getirmezken düşük frekanslarda ve 15 dk. uygulama ile aminoasitlerin hidrofilik kısımlarının suya doğru açılması ile proteinin yapısında ve konformasyonunda meydana gelen değişim ile çözünürlüğünde artış olduğunu bildirmişlerdir. Çözünürlüğün artmasına yüksek iletkenlikteki yüklü grupların sayısının artması ile globüler proteinlerin üçüncül yapısındaki değişimlerin de etkili olabileceğini bildirmişlerdir. Böylece elektrostatik kuvvetlerin büyüyeceğini ve daha fazla suyun proteine bağlanacağını ve protein-su interaksyonunun artacağını bildirmişlerdir. Köpük oluşumunda da kısa sürede ve düşük frekansta artış saptanmıştır. Serum proteinlerinin hidrolizi ve işlem sırasındaki lokal sıcaklık artışı köpük oluşumunu artırmaktadır. Köpük oluşturma özelliğindeki artış ultrasoundun homojenizasyon etkisi ile ilişkilendirilmiştir. Ultrasound işlemine α -LA'nın β -LG'den daha dirençli olduğunu belirlemişlerdir [17].

Çiğ sütün kompozisyon, oksidasyon ve peynir yapım özellikleri üzerine farklı yoğunluk ve sürelerdeki ultrasound uygulanmasının etkilerinin araştırıldığı bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada ayrıca sonikasyondan önce süte CO₂ ve HCl ilave edilerek bu kimyasalların ultrasound ile birlikte ortaya çıkan kötü tat azaltabilmedeki etkisini test etmişlerdir. Ultrasound ile sütün serbest yağ asidi seviyesi artmış, somatik hücre sayısı azalmış, oksidasyon ve pH artmış ve sütün koagülasyon özellikleri gelişmiştir. Yapılan duyusal değerlendirmede ise ultrasound uygulamasının süresi ve yoğunluğunun artmasıyla yanık tat oluşumunun arttığı görülmüştür. CO₂ ilavesinin ise ultrasound uygulamasının kötü tat algısını ve oksidasyon ürünlerinin yıkıcı etkilerini azaltmada etkili olduğunu saptamıştır. Ancak bu ilave ile tatta ekşilik ortaya çıkmıştır. Bu çalışmada sütün koagülasyon özellikleri bariz bir şekilde artmıştır. Bu da peynir üretiminde verim artışı adına ciddi bir sonuç

ortaya çıkartmıştır. Ayrıca CO₂ kullanımının süt ürünleri üretiminde ortaya çıkan kötü tadı ve proteolitik aktiviteyi düşürmesi, oksidasyon ürünlerinin oluşumunu azaltması sonikasyonun organik matrisler ve gıdalarda kullanımının artacağını ortaya koymuştur [18].

Termosonikasyon uygulanmış süt ile hafif esmer Queso Fresco peynir üretiminin, teknolojisi üzerine etkisini saptamak amacıyla bir çalışma yapılmıştır. Bu peynir çeşidi Latin Amerika ve Amerika'nın bazı belli bölgelerinde tüketilen el yapımı bir peynir çeşididir. El yapımı olması ve üretim prosesinde uygulanan işlem basamaklarının az olması mikrobiyal kalitesini etkilemekte, raf ömrünün ve veriminin çok düşük olmasına neden olmaktadır. Çalışmada termosonike süt ile üretilmiş ve +4°C de depolanmış peynirlerin fizikokimyasal ve mikrobiyal parametreleri değerlendirilmiştir. Çiğ süt 400 W 24 KHz ultrasound ile işleme tabi tutulmuştur. Toplamda 6 süt örneği ile çalışılmıştır. Birincisine hiçbir işlem uygulanmamış diğerlerine ise 63°C/30 dk. ısıtıl işlem, 63°C/30dk.+sonikasyon, 63°C/10dk.+sonikasyon, 72°C/15Sn.+sonikasyon, 72°C/1dk.+sonikasyon uygulanmış, tüm örnekler geleneksel yöntemle peynire işlenmiş. Sonikasyon tüm örneklerde ciddi sonuçlar vermiştir. Pıhtılaşma süresi çok kısalmış, peynir veriminde %20,6 lık artış sağlanmış, peynirin parlaklığında artış olmuş (*L**), mikroyapı ve tekstürel özellikler çok iyileşmiş olduğu ortaya konulmuştur. En iyi sonucun ise 63°C/30dk.+sonikasyon ile elde edildiği görülmüştür. Mikrobiyal değişim ise +4°C de 23 günlük depolama sonunda, toplam mezofiliklerde 4 log artış, psikrofiliklerde 3,5 log ve *Enterobacter*'lerde 3 log luk artışlar görülmüştür. Bu depolama sürecinde pH ve renk neredeyse değişmemiş sinerisis ise minör düzeyde görülmüştür. Yağ globülleri ve kazein misellerindeki mikroyapıdaki değişikliklere bağlı olarak peynir verimi, ultrasound uygulanmamış örneğe göre çok yükselmiştir. Peynirlerin raf ömrü oldukça uzamış ve toplam kalitesi önemli düzeyde artmıştır [19].

2.2. Mikotoksinler

Mikotoksinler insan gıdalarında ve hayvan yemlerinde gelişip çoğalan mantarların ikincil metabolit ürünleridir. Mikotoksin terimi Yunanca küf anlamına gelen mykes ve zehir anlamına gelen toxicum kelimelerinin birleştirilmesinden türetilmiştir [20]. Bir üründe mikotoksine rastlanılması için öncelikle küf gelişiminin olması gerekir ancak bu her küf gelişimi olan gıdalarda toksin görüleceği anlamı da

taşımamaktadır. Bir mikotoksin çeşidi birden fazla cins tarafından oluşturulabildiği gibi bir cinsten birden fazla çeşitte toksin meydana getirebilmektedir [21].

Mantarlar insanlar ve hayvanlarda üç şekilde rahatsızlık meydana getirmektedirler;

- Enfeksiyona bağlı mantar hastalığı,
- Küf mantar sporlarının solunmasıyla ya da sporlarına dokunulmasıyla alerjik reaksiyonlar,
- Mantar metabolitleri oluşmuş olan gıda maddelerinin tüketilmesiyle zehirlenmeler.

Zehirlenmeler mantarların ayırt edici özel karakterlerini yansıtmaktadır, böylece mantari hastalıklardan ayırt edilir. Mantari zehirlenmeler ne bulaşıcı nede enfekte edicidirler. Mantarlar; hayvanlar (zootoksik), bitkiler (fitotoksik) ve mikroorganizmalar (mikotoksik) için toksik olan metabolitler üretmektedirler. Tablo 2.2.'de bazı mikotoksinler ve meydana getirdikleri mikotoksikozlar verilmiştir. En sık karşılaşılan mikotoksinler aflatoksin (AF), okratoksin, trikotesenler, zeranol, patulin, siklopiazonik asit ve fumonisin olarak sıralanabilir. Mikotoksinler içerisinde önemli yere sahip bu toksinler, İngiltere'de çok sayıda kanatlı hayvanın ölümü ile sonuçlanan "Turkey X" hastalığı sonucunda keşfedilmişlerdir. Yüz binden fazla hindi ve diğer çiftlik hayvanının ölümüyle sonuçlanan hindi hastalığı salgınları sonrasında aflatoksinler heterosiklik bileşikler ile bağlantılı bir grup olarak 1960 yılında bulunmuştur. CPA'nın aflatoksin üreten küfler tarafından birlikte üretildiği meydana gelen zehirlenmelerde ortaya çıkmış ve buda CPA'nın toksisitesini ortaya koymuştur [7].

Tablo 2.2. Bazı mikotoksinler ve mikotoksikozlar [7]

Mikotoksikoz/Neden Olan Mikotoksin	Hayvan Türleri	Temel Toksikojenik Küf	Temel Duyarlı Bitkiler
Aflatoksikoz, B1,B2,G1,G2	Kümes Hayvanları, İnekler, Domuz	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>	Mısır, Buğdaygiller, Pamuk Tohumu, Kuruyemişlerin Pekçoğu, Karışık Tohumlar
Okratoksin A, B	Domuz, Kümes Hayvanları	<i>Penicillium viridicatum</i> , <i>Aspergillus ochraceus</i>	Mısır, Yulaf, Arpa, Yer Fıstığı, Tohumlar
Siklopiazonik Asit		<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. oryzae</i> , <i>A. tamari</i> , <i>Penicillium camemberti</i> , <i>P. griseofulvum</i> , <i>P. viridicatum</i> , <i>P. puberulum</i> , <i>P. crustosum</i>	Mısır, Yer Fıstığı, Toprak, Tahılları, Kakao, Peynirler, Etler, Jambon, Fermente Sosis
Sitridin Toksikoz	Domuz, Kümes Hayvanları	<i>Penicillium spp.</i>	Buğday, Yulaf, Baklagiller, Çavdar
Ergotizm, Ergotamine, Ergotoksin, Ergometrin Alkoloidleri	Kümes Hayvanları, İnekler, Domuz, Koyunlar	<i>Claviceps purpurea</i>	Çavdar, Buğday, Pirinç, Sorgum, Mısır
Zearalenone Toksikoz	Domuz	<i>Fusarium spp.</i>	Çavdar, Buğday, Pirinç, Sorgum, Mısır

2.2.1. CPA (Siklopiazonik asit)

Siklopiazonik asit ilk olarak Holzappel tarafından 1968 yılında yer fıstıklarında rutin küflerden kaynaklı toksinlerin görüntülenmesi sırasında *Penicillium cyclopium* tarafından sentez edildiği tespit edilmiştir. CPA'nın insan ve hayvan sağlığı üzerine olan potansiyel tehlikesi diğer küf mikotoksinlerine göre daha düşüktür. Sonuç olarak CPA hakkında pek çok ülkede bir analiz zorunluluğu bulunmamaktadır [21].

2.2.1.1. Siklopiazonik Asidin Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

CPA indol tetramik ve lipofilik tek bazlı bir asittir. Şekil 2.7.'de görüldüğü üzere yapısında mevanolat, triptofan ve iki asetat ünitesi bulunmaktadır. CPA'nın

Bissekodehidro siklopiazonik asit (β -CPA) ve imin siklopiazonik asit olmak üzere iki indol türevidir. Ancak yapılan çalışmalar bunların CPA ya göre daha az toksijenik olduklarını ortaya çıkartmıştır.

CPA (α -CPA) [7]

Sinonimi(Eşi) : Yok

Kimyasal adı: 10-asetil-2,6,6a,7,11a,11b-hekzahidro-11-hidroksi-7,7-dimetil-(6 α , 11 β ,11 α)-9Hpirolo[1', 2':2, 3] izoindol[4, 5, 6-cd] indol-9-bir

Emperik formülü: C₂₀H₂₀N₂O₃

Molekül ağırlığı: 336,4

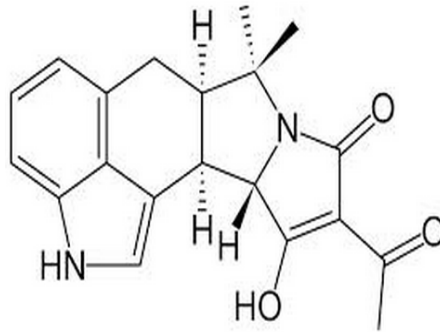
Açıklama: İndol ve tetramik asit parçaları ile karakterize edilen kristal metabolit, optikçe aktif, renksiz, kokusuz

Tanımla verileri:

Erime aralığı: 214-218°C (60°C de 1 saatlik kurutmadan sonra)

Özgün çevirme : $[\alpha]_D^{21} = -109,4^\circ$

Çözücü: Kloroform



Şekil 2.7. Siklopiazonik Asit [7]

2.2.1.2. Siklopiazonik Asidin Biyolojik Etkileri

CPA Ca⁺² iyonlarının homostasisinde de değişiklik, plazma zarlarının, mitokondrinin elektriksel yüklerinde değişiklik ve antioksidan özelliklerde değişiklik olmak üzere canlılarda 3 temel değişikliğe neden olmaktadır. Ca⁺² iyonları homotatisindeki etkisi, CPA kalp ve iskelet kaslarında ve endoplazmik retikulumda etkin olan Ca⁺²-ATPase enzimi için spesifik inhibitör etkiye sahip olması; ayrıca CPA Ca⁺² nin hücre zarında geçişinin etkileyerek homoostasiyi etkilemektedir. Elektriksel dengeyide CPA'ya maruz kalmış hücrelerde katyon olan

tetrafenilfosforyum birikmesine neden olarak değiştirmektedir. CPA'nın yağlarda görülen peroksidasyonu engellemesi antioksidan özelliğini ortaya koymaktadır ancak mekanizması henüz aydınlatılamamıştır. CPA ayrıca şelatlama ajanı olarakta etkinliğe sahiptir. CPA ayrıca broyler tavukların taşlıklarında, böbreklerinde ve karaciğerlerinde büyüme oluşturmuş, bünyede sirküle eden ürik asit ve kolesterol seviyesi miktarlarını artırdığı görülmüştür [7].

2.2.1.3. Siklopiazonik Asidin Toksikolojik Özellikleri

CPA hayvanların türlerine bağlı olarak güçlü akut toksitelere neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda etkilenen hayvanlar ise domuzlar, fareler, tavuklar, hindiler, tavşanlar, köpekler olarak ortaya konulmuş ve en fazla etkilenen organlarının ise karaciğer olduğu görülmüştür. Tablo 2.3.'de CPA'nın öldürücü olan dozları gösterilmiştir. CPA bulaşık yemlerle beslenen hayvanların beslenmeden sonra kaslarında CPA bulunmuştur. Bu durumda bu hayvanlarda duruş bozukluğu ve istemsiz kas kasılmaları görülmüştür.

Tablo 2.3. Siklopiazonik asidin akut toksisitesi [7]

Tür	Cinsiyet	LD ₅₀ (mg/kg kilo ağırlığı)	Referans
Fare	Dişi	63,0	Nishie ve ark.,1985
Fare	Erkek	13,0	Nishie ve ark.,1985
Tavuk	Dişi	63,0	Wilson ve ark., 1989
Tavuk	Erkek	12,5	Wilson ve ark., 1989
Ördek yavrusu	Karışık	38,6	Wilson ve ark., 1989

CPA'nın vücuttan uzaklaştırılmasının temel mekanizması boşaltım sistemi ile olmaktadır. CPA'nın nörotoksik etkilerine bakıldığında 8 mg/kg oranında vücuda yapılan enjeksiyon ile farelerde sinir sistemi semptomları görülmüştür. Ayrıca katalepsi, hipokinezi ile kas kasılmalarına ve uzun süreli uyumalara neden de olabilmektedir. Gıdalarda ve yemlerde oluşan CPA zehirlenmelere neden olabilmektedir (Tablo 2.4.) [7].

Tablo 2.4. Siklopiazonik asit kaynaklı kayıt altına alınan zehirlenmeler [7]

Hastalık	Türler	Gıda/yem
Turkey X disease	Kümes hayvanları	Yer fıstıkları
Kouda zehirlenmesi	İnek, insan	Yulaf
Ölüm	Bıldırcın	Karışık yem
Ölüm	İnekler	Arpa
Baş dönmesi	İnekler	Karışık yemler

CPA'nın tehlikeli olması konusunda çelişkili yaklaşımlar bulunmaktadır. Bazı bilim insanları CPA'nın gıda kontaminasyonu riskini az görmektedirler ve düşük dozlarında insan sağlığı için bir tehdit oluşturmadığını bildirmektedirler. Bunun aksine Morrissey ve ark. ise CPA'nın et, süt ve yumurtalarla birikimi olduğunu bununda gıda zincirinde toksisite problemi ortaya çıkaracağını iddia etmektedirler. CPA, aflatoksin üretiminden sorumlu olan *Aspegillus* küf türlerinin pek çoğu ve *Penicillium* türleri tarafından sentezlenebilmektedir [7].

2.2.1.4. Bitkiler, Hayvanlar ve Hayvansal Ürünlerde Siklopiazonik Asit

CPA genel olarak aflatoksin sentezinden sorumlu olan küfler tarafından bir yan ürün oluşumu şeklinde de meydana gelmektedir. Bu konuda ön plana çıkan cins ise *Aspergillus flavous* tür, ancak aflatoksin ile CPA üretimi arasında bir korelasyondan bahsetmekte mümkün değildir. Tarımsal ürünler içersinde CPA varlığının en sık tespit edildiği ürün yer fıstıkları olup bunu hayvan yem sanayinde de kullanılan mısır takip etmektedir. Bunların dışında tahıllarda, baklagillerde ve kuru incirlerde de CPA'ya raslanılabilmektedir [7].

Hayvan yemlerinde CPA varlığı bu hayvanlardan elde edilen ürünlerde CPA bulunma riskini artırmaktadır. Öyleki laktasyon döneminde olan ineklerin emzirdikleri yavrularına süt yoluyla geçmektedir. 5 mg/g CPA içeren yemlerle beslenen ineklerin sütlerinde CPA miktarında 2 günlük beslenme sonucunda 236-568 ng/g düzeyinde bir artış olduğu tespit edilmiştir. Tüketiciler tarafından sıklıkla tüketilen et, süt, yumurta gibi hayvansal ürünlerde bulunması insan sağlığı için tehdit oluşturmaktadır [7]. Mısırlarda yapılan çalışmalarda da CPA bulunma oranı

yüksektir. Urano ve ark. tarafından yapılan çalışmada rastlanılma oranı %51 olup miktarı 25 ile 2800 ng/g arasındadır. Lee ve Hagler'a ait çalışmada ise mısırlarda CPA rastlanılma oranı %57 ve miktarı 25-250 ng/g seviyelerinde bulunmuştur. Domates ürünlerinde HPLC metoduyla yapılan bir çalışmada ise 8 ng/g limit değeri tespit edilmiştir [22]. Mayhoş limonlar üzerinde bulunabilen suşların inoküle edildiği bir çalışmada geç hasat edilmiş limonlar üzerinde TLC metoduyla 250 den 2501 µg/kg düzeylerine kadar CPA tespit edilmiştir [23]. Yer fıstığı ve mısırlar üzerine yapılan çalışmada TLC yöntemi ile 125 µg/kg limit değerlerinde tespit yapılmıştır [7]. Mısır ve pirinçlerdeki CPA miktarının bir tespitinde HPLC ve UV fotodiyot dizi dedektörü ile çalışmış ve toplamda 6 mısır örneği çalışılmış ve bir tanesinde 76 ng/g düzeyinde tespit edilmiştir [24].

Bir başka çalışmada da kontamine mısırlarda CPA üretimi, TLC metodu ile tayin edilmiştir. Çalışmada CPA için tespit limiti 0.25 µg/mL (250 ppb) olarak belirtilmiştir [7]. Tablo 2.5.'de yapılmış olan benzer çalışmalar ve miktarları gösterilmiştir.

Tablo 2.5. CPA'nın bitkisel ürünlerde ve peynirlerde oluşumu [7]

Ürün	Yer	Oran	Konsantrasyon (µg/Kg)
Peynir	Almanya	9/21	100-1500
Peynir	Fransa	11/20	50-1500
Peynir	Kuzey Afrika	Belli değil	35-70
Yer fıstıkları	ABD	21/27	32-6525
İtalyan Beyaz peyniri	İtalya	-	20-80 (Zambonin ve ark., 2001).
Mısır	Endonezya	21/26	30-9220
Ayçiçek çekirdekleri	ABD	1/1	10000

2.2.2. Siklopiazonik Asidin Tayin Yöntemleri

2.2.2.1. Enzime Dayalı Yöntem (ELİSA)

Hahnau ve Weiler alkali fosfataz enzimi kullanarak CPA analizini gerçekleştirmişlerdir. Metot, CPA'nın hiçbir ön saflaştırma işlemine tabi tutulmadan 2 µg-30 µg düzeyindeki tespitlerinde başarılı olmuştur [7].

2.2.2.2. Ekstraksiyonu, Saflaştırılması ve Miktarının Saptanması

İzolasyonu ve Ekstraksiyonu: Diğer komponentlerin ekstraksiyonunda kullanılan bütanol, kloroform, metanol-kloroform, diklorometan gibi çözücüler vasıtasıyla ekstrakte edilebilmektedir. CPA'nın çözünmesi için en ideal olan çözücüler ise asitlendirmeden sonra kullanılan kloroform gibi organik kökenli olanlarıdır. CPA organik fazdan sıvı sodyum bikarbonat çözeltisi kullanılarak alınır. CPA'nın ekstraksiyonunda önce sulu faz HCl ile asitlendirilir sonra kloroform kullanılarak alınabilir. Bugüne kadar CPA'nın ekstraksiyonunda ürüne de bağlı olarak çeşitli solventler kullanılmıştır. Örneğin mısırlardan ekstraksiyonunda yapılan bir çalışmada metanol-kloroform (1/1) karışımı, peynirlerde yapılan CPA ekstraksiyonunda ise azotropik metanol-kloroform karışımı, yer fıstıklarında CPA ekstraksiyonunda ise (20:80) metanol kloroform karışımı kullanılmış ve sonrasında sıvı sodyum karbonat ile ayrımı sağlanmıştır [7].

Temizleme ve Saflaştırma: CPA'nın kültür ortamından saflaştırılmasında kolon veya ince tabaka kromografisinden yararlanılmaktadır. Holzapfel yaptığı çalışmada CPA'yı temizlemek için formamit- oksalit asit (50:3) emdirilmiş selüloz tozu kolan kullanmıştır. Elüsyon ise hekzan-benzan (3:1) karışımı ile yapılmıştır. Toplanan eluentler Dowex 1x8 kolon kullanılarak birleştirilip fraksiyonlarına ayrılmıştır. Daha sonra 0-3,5 M konsantrasyonundaki formik asit ve metanol ile yıkanmış, metanol çözeltisinden kristallendirilerek ayrıştırılmıştır.

Saflaştırmada TLC kullanılmıştır. Bu metotta 0,4 N sulu oksalik asit 1:2 oranında silikajele emdirilmiş TLC tabakasında 100°C'de 40 dk. tutulmuştur. TLC kullanımdan önce desikatörde bekletilmiştir. TLC de oksalik asit varlığı CPA'nın tabakada hareketini sağlamıştır. Kloroform-izobütil keton (4:1) karışımı solvent kullanılmış ve CPA UV ışık altında yada konsantre sülfirik asit veya % 1 etanolik demir III klor sprey edilerek 110°C'de 10 dk. süresince bekletilmesiyle saptanmıştır.

Eğer CPA tabakada olması gerekenden daha uzun bir süre herhangi bir kimyasal ile sprey edilmeden tutulacak olursa viole kırmızısı renk verir. Bu metot CPA'nın miktarının tespitinde kullanılabilir [7].

Kolorimetrik Metot: Bu metot CPA'nın gıda, yem, pirinç, tahıllarda tespitinde p-dimetilaminbenzoaldehitin α ve β doymamış indol ile konsantre HCl ortamında reaksiyonuna bağlı olarak kullanılmaktadır. α pozisyonunun kondensasyonu ile mor katyon 560 nm dalga boyunda oluşmuştur. Metodun duyarlılığı 5-50 $\mu\text{g/ml}$ ve geri kazanım oranı ise % 63-95 arasındadır [7].

Spektrofotometrik Metot: Ehrlich reaktifi reaksiyonuna dayanmaktadır. Metot mısır ve yemlerde CPA tespitinde başarılı olmuştur. Yöntem 0,08 mg/kg analiz limitinde 580 nm dalga boyunda çalışmaktadır [7].

Gaz Kromatografisi Metodu: Erimiş silika kaplı kapiler kolon kullanılarak aynı anda CPA'nın da aralarında olduğu 6 farklı mikotoksinin gaz kromatografisi ve kütle spektrası yardımıyla (GC-MS) tespitinin yapılabileceğini belirtmişlerdir. Bu metot ile tespit sınır limitleri 5 ng CPA için 1 ng aflatoxin içindir. Kütle kromatografisi ile CPA için minimum tespit sınırı 0,5 ng'dır [7].

Sıvı Kromatografisi Metodu: Bu metot yer fıstıklarında CPA'nın ters faz HPLC kullanılarak tespitinde kullanılmıştır. Çalışmada ligand değişim kromatografisinde C8, C18 ve 4-dodosildietilentrüamin ile doldurulmuş kolon, mobil faz olarak çinko asetat içeren amonyum asetat, 2-propanol, asetonitril ve 4-dodosildietilentrüamin karışımı kullanılmıştır. 80:20 oranında kloroform-metanol karışımı ile ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. CPA tespiti 289 nm dalga boyundaki UV ışıkla 4 ng alt limitinde tespit edilmiştir [7].

2.2.3. Süt ve Süt Ürünlerinde Siklopiazonik Asit

Ağız yoluyla önemli miktarlarda CPA içeren yemlerle beslenen süt hayvanlarının sütlerinde CPA bulunması tüketici durumundaki insanları tehdit edebilmektedir. CPA'nın süt ve ürünlerindeki miktarına süte uygulanan işlemlerin etkisi konusunda henüz yeterli bir bilgi bulunmamaktadır. Ancak bu durum aflatoxin türü mikotoksinler için tam tersi olup bu konuda belli başlı çalışmalar

yapılmıştır. CPA yüklü süte uygulanan ısıt işlemlerin, soğukta bekletmenin ve starter kültür ile fermentasyonun etkileri pek aydınlatılmış konular değildir [7].

2.2.3.1. Peynir Üretiminin Siklopiazonik Asit Üzerine Olan Etkisi

Üretim prosesinin CPA üzerine etkisi pek bilinmemekte ancak peynirlerin olgunlaştırılması ya da depolanması sırasında oluşumu ve tespiti üzerine yapılmış çalışmalar mevcuttur (Egmond, 1989). Bazı küfler ile olgunlaştırılan peynir çeşitlerinde CPA'nın da geliştiği yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir. Bu peynirlerde tespit edilen düzeyler insan sağlığını tehdit edebilecek değerlerden çok düşük düzeyde çıkmışlardır. [7].

2.2.3.2. Sütün Kurutulması ve Konsantre Hale Getirilmesi

Bu proseslerin CPA üzerinde herhangi bir değişim oluşturmadıkları ancak Aflatoksin M1 e etki etikleri bu tip mikotoksinlerin spey kurutma ile % 86'sının yok edilebildiği yapılan çalışmalarda belirlenmiştir [7].

2.2.4. Siklopiazonik Asit Hakkında Genel Değerlendirme

CPA genel olarak aflatoksin üreten türlerin ikincil metabolit ürünü olarak ortaya çıkmaktadır. Aynı zamanda *Penicillium* türü küfler tarafından da oluşturulmaktadır. Süt ürünleri üzerine yasal sınırlamalar literatürde yer almamaktadır. Gıdaların ve yemlerin tüketilmesiyle insanları ve hayvanları benzer şekilde etkilemektedir. CPA bir tür indol tetramik asit olup tüm hayvan türleri üzerine toksik etkisi bulunmaktadır. CPA hepato karsinojenik etkisi pek olmayan ancak mutajenik ve bağışıklık sistemini etkileyen bir mikotoksindir. Etkin olan dozu hayvan türüne göre değişmekle birlikte 2,3-69,6 ppm düzeyinde ölümcül doz aralığı vardır. İnsanlarda nörolojik ilaçlara benzer nörotoksik etki göstermektedir. CPA iskelet kaslarında ve et ürünlerinde birikebilmektedir. Benzer şekilde oral yolla alınması halinde önemli miktarda yumurta ve süte geçmektedir. Bu sebeple bu ürünlerle beslenen insanlara da geçebilmektedir. CPA süt ürünlerinde genelde olgunlaşma sırasında gelişen mikroflora tarafından oluşturulmaktadır. Aflatoksin oluşturan türler tarafından üretilmesi aflatoksin açısından sıkıntılı olan ürünlerde CPA'nın olabileceğini ortaya koymaktadır. Süt ürünlerini işlenmesi sırasında uygulanan teknolojik işlemlerin CPA üzerine olan etkisi konusunda bir literatür

eksikliği bulunmaktadır. Aflatoksin üzerine etkisi olan işlemlerin CPA üzerine de etkin olabileceği düşünülmektedir [7].

2.3. Krem Peynir

Dünyada en fazla tanınan ve çeşidi olan gıda peynirdir [25]. Türk Gıda Kodeksine göre peynir, hammaddenin uygun bir pıhtılaştırıcı kullanılarak pıhtılaştırılması ve pıhtıdan peynir altı suyunun ayrılmasıyla ya da sütün permeatının (su, laktoz, mineral meddeler, küçük moleküllü proteinler) ayrılmasından sonra pıhtılaştırılmasıyla elde edilen, farklı sertliklerde ve yağ içeriklerinde, salamura ile ya da kuru tuzlama ile tuzlanarak ya da tuzlanmadan, starter kültür kullanarak ya da kullanmadan, telemesi haşlanarak ya da haşlanmadan, çeşnili ya da çeşnisiz olarak olgunlaştırılmadan ya da olgunlaştırıldıktan sonra tüketilen, çeşidine özgü karakteristik özellikleri gösteren süt ürünleridir. Peynir çabuk bozulabilen sütün, rutubet oranının azaltılarak, besin değeri yüksek ve uzun süre (peynir çeşidi ve muhafaza koşullarına bağlı olarak 4-5 günden 5-10 yıla kadar) bozulmadan saklanabilen besine dönüşmesiyle elde edilen bir üründür [25]. Çok eski bir geçmişi olan peynirin birçok çeşitleri yapılmakta ve her biri sevilerek tüketilmektedir. Bugün dünyadaki peynir çeşitlerinin sayısının 4000 civarında olduğu tahmin edilmektedir [26]. Bu peynirlerden biri olan krem peynir natürel peynirlerden farklı olarak direkt süttten üretilmeyen, süt ürünleri ve süt ürünleri olmayan su, tereyağı, kazein, serum proteinleri, bitkisel proteinler gibi farklı katkı maddelerinin ve farklı olgunluktaki peynirlerin emülsifiye edici tuzlar varlığında ısıtıl işlem ve sürekli karıştırma yardımıyla, pürüzsüz dokulu homojen yapıda elde edilmektedir [27]. İlk eritme peyniri, emülsüfiye edici tuzlar olmaksızın 1895 yılında üretilmiş ve fosfat gibi emülsüfiye edici tuzlar peynire ilave edilinceye dek endüstriyel boyutta bir üretim gerçekleşmemiştir. İlk endüstriyel eritme peyniri ise 1912 yılında İsviçre’de üretilmiş ve hazır ambalajlı olarak ilk üretim ise 1917 yılında Kraft firması tarafından gerçekleştirilmiş; bu üretimlerde sitrat tuzları kullanılmıştır [28]. Krem peynir için örnek kimyasal bileşim Tablo 2.6.’da verilmiştir. TS 2176 eritme peynir standartlarına göre eritme peynir pastörizasyon işlemi uygulanmış nem miktarı %60’tan fazla olmayan, kullanılan hammaddelere özgü tat ve kokuda olan, tuz miktarı kurumadde de %7’yi aşmayan, eritme tuzlarının miktarı % 4’ü geçmeyen, minimum pH değeri 5.5 olan ve kuru madde de yağ içeriğine göre tam yağlı (kurumaddede yağ oranı min. %45) , yağlı (kurumaddede yağ oranı min. % 30),

yarım yağlı (kurumaddede yağ oranı min. % 20), az yağlı (kurumaddede yağ oranı min. % 10) olmak üzere dörde ayrılmıştır. Türk Standartlarında belirtilmemesine karşın eritme peynirleri değişik ülkelerde “Blok eritme peynirleri (kesilebilir)”, “Krem eritme peynirleri (sürülebilir)”, “Çeşnili eritme peynirleri” ve “Konserve eritme peynirleri” şeklinde de çeşitli gruplara ayrılmaktadır [29].

Tablo 2.6. Eritme Peynirlerinin Tipik Kompozisyonu

100 g eritme peyniri	KM’de % 45 yağ içeren	KM’de % 60 yağ içeren
Su (%)	51,3	50,6
Yağ (%)	23,6	30,4
Protein (%)	14,4	13,2
Sodyum (mg/100gr)	1,26	1,01
Potasyum (mg/100gr)	65,0	108,0
Kalsiyum (mg/100gr)	547,0	355,0
Fosfor (mg/100gr)	944,0	795,0
Vitamin A (mg/100gr)	0,30	-
Vitamin B ₂ (mg/100gr)	0,38	0,35
Vitamin B ₁ (µg /100gr)	34,0	40,0
Vitamin B ₆ (µg /100gr)	70,0	80,0
Vitamin D (µg /100gr)	3,13	-
Folik asit (µg /100gr)	3,46	3,40
Biotin (µg /100gr)	3,60	2,80

2.3.1. Krem Peynir Üretim Basamakları

Krem peynir üretimi oldukça karmaşık bir üretime sahiptir. Üretimi esas olarak sütün ana bileşenleri ile emülsüfiye edici tuzlar arasındaki interaksiyondan etkilenmektedir. Bu etkileşim ise başta uygulanan ısıl işlemin derece ve süresine ve uygulanan karıştırma işleminin koşullarına bağlıdır [30]. Eritme peyniri üretimi için değişik ülkelerde çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler arasında çok önemli farklılıklar olmamakla beraber söz konusu farklılıklar, bazı proses aşamalarının sırasının değişmesinden, işlem normlarındaki (sıcaklık, süre, nem, basınç vb.) farklılıklardan, kullanılan eritme tuzlarının miktar ve çeşitlerinin değişmesinden kaynaklanmaktadır. Genel olarak eritme peynirlerinin proses aşamaları: 1. Doğal peynir seçimi, 2. Katkı maddelerinin seçimi ve kombinasyonu, 3. Emülsüfiye edici tuzların ilavesi, 4. Isıl işlem, 5. Homojenizasyon, 6. Paketleme, 7. Soğutma, 8. Depolama şeklindedir [29].

2.3.1.1. Doğal Peynir Seçimi

İyi bir krem peynir üretimi uygun kalitedeki peynirlerin kullanılmasına bağlıdır. Krem peyniri üretiminde tek bir çeşit peynir kullanılabileceği gibi farklı türdeki ve olgunluktaki peynirlerin harmanı da kullanılabilmektedir [28]. Üretimde kullanılan peynirler ve oranları son ürünün elastikiyeti üzerine direkt etkiye sahiptir. Genel olarak kullanılan peynirlerin seçiminde son ürünün kabul edilebilir bir tat ve kokuya sahip olması için hammaddelerin tadına, tekstürüne, içeriğine, asitliğine, mikrobiyal bozukluğu gibi bazı kriterlerine dikkat edilmektedir [30]. Eritilecek sert ve yarı sert peynirler kabuklarından, varsa parafın, plastik, bez, kılıf gibi koruyucu örtülerinden arındırılırlar. Çok sert kabuklar buharla muamele edilerek yumuşatılırlar. Kabuk soyma işlemi ya elle bıçaklar yardımıyla ya da bu amaç için geliştirilmiş özel kabuk soyma makineleriyle gerçekleştirilir. Ayrıca ılık su verilerek peynir yüzeyleri fırça veya raspa ile iyice temizlenir [29]. Lokal mikrobiyal bozulma görülen peynirlerin bozuk kısımları uzaklaştırılarak bir miktar kullanılabilmektedir. Böylece bu işlemler üretim sırasında daha iyi bir erime, hammaddelerin için daha iyi bir karışım ve emülsüfiye edici tuzlar ile peynir bileşenleri arasında daha iyi bir etkileşimin meydana gelmesine katkı sağlamaktadır [30].

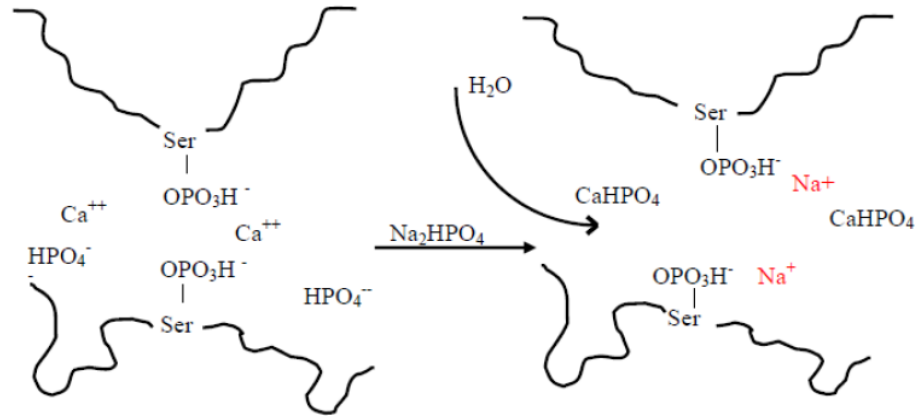
2.3.1.2. Katkı Maddelerinin Seçimi Ve Kombinasyonu

Krem peynirin son ürün kalitesini, lezzetini ve yapısını, formülasyonda kullanılan katkı maddelerinin çeşitleri ve oranları önemli derecede etkilemektedir. En yaygın olarak kullanılanlar ise peynir altı suyu tozu (PST), eritme tuzları, tuz, su, tereyağı, yağsız süt tozu, çeşitli baharatlar ve benzerleridir [31].

Krem peynirin en önemli kalite parametrelerinden olan yağ içeriği; krema, tereyağı veya susuz süt yağı ilavesi ile su miktarı; direkt su ilavesi ya da direkt buhar enjeksiyonlu ısıtma işlemi ile ayarlanabilmektedir. Ayrıca bu ayarlamaları yaparken içine ilave edilecek olan et, balık ürünleri ya da renk verici sıvı gıda bileşenleri de göz önüne alınmak gerekmektedir. Yağsız süt tozu ilavesi krem peynirlerin kalitesini ve stabilite özelliklerini % 12 düzeyine kadar kullanılması halinde artırmaktadır. Kazeinatların ve PST nin % 5-7 düzeylerinde kullanımı da kaliteyi olumlu yönde desteklemektedir. Bu miktarların üzerine çıkıldığında ürün stabilitesini etkilediği gibi tat ve tekstürde olumsuz etkilemektedir [30].

2.3.1.3. Emülsifiye Edici Tuzların Ve Çeşitli Katkı Maddelerinin İlavesi

Emülsifiye edici tuzlar genel olarak tek değerlikli katyon (Na) ve çok değerlikli anyon olan (P) iyonlarından oluşmaktadırlar. Bu tuzlar genel olarak % 3 oranında kullanılmakta ve pH ayarlaması için gıda saflığında sitirik asit ile son ürünün tuz oranını ayarlamak adına peynir karışımına belli oranda NaCl ilavesi yapılmaktadır. Aslında kullanılan bu tuzlar ampfifilik olmadıkları için emülsifer özellikleri yoktur. Ancak bu tuzlar sıcaklığın ve karıştırmanın yardımıyla para-kazein molkülünde rehidrasyon meydana getirmekte ve böylece kazein proteinleri emülsifiye edici karakter kazanmaktadırlar [30]. Esas olarak proteinlere bağlı olan kalsiyum iyonları kazein molekülünden ayrılmakta ve kazeinlerin çözünürlüğü artmaktadır böylece kazeinler yağ globüllerinin etrafını çevreleyerek yağları stabilize ederler. Sonuçta pürüzsüz, homojen, sakızımsı kıvamda bir peynir kitlesi elde olunur. Emülsifiye tuzlarda bulunan Na^+ iyonları kalsiyum iyonları ile yer değiştirmekte ya da onları bağlamaktadır. Bu durum Şekil 2.8.'de şematize edilmiştir [28].



Şekil 2.8. Emülsifiye edici tuzların kalsiyum iyonları dolayısıyla kazein agregatlarına olan etkisi [28]

Çeşitli katkı maddelerinden kasıt peynirlerde tat ve aroma değişikliği oluşturan katkıların kullanımınıdır. Bu katkıları sayesinde krem peynir tüketimi daha zevkli hale gelmekte ve tüketimi artmaktadır. Tablo 2.7.'de bu katkıları örnekler verilmektedir.

Tablo 2.7. Krem peynir üretiminde kullanılan gıda maddeleri ve tat ajanları [30]

Katkı	Etkisi
Keçi sütü peyniri ve kazein	Tat üzerine belirgin bir etkisi olmayıp ürün yapısını geliştirmiştir.
Çikolata	Besleyici değerini ve tadı geliştirmiştir.
Değişik türde margarinler ve yağlar	Ürünün daha ekonomik olması sağlamıştır.
Salam, paprika, karides	Ürün satışlarını artırmıştır.
Bitkisel protein	Soya ve nohut proteinleri içeriği zenginleştirmiştir.
Yumurta proteini	Tekstürü etkilemiştir.
Kazein hidrolizatı	Kazeinin emülsüfiye edici özelliklerini geliştirmiş ve ürün tadında bir kötü tat algısı oluşmamıştır.

Tat vermenin ve yapı geliştirmenin dışında kullanılan bir diğer katkı çeşidi ise koruyucu maddelerdir. Bunlar genel olarak bakterosinler olarak bilinmektedirler ve patojenlerin gelişimini engellemektedirler. Bu amaç için kullanılan maddelere örnek olarak nisin ve benzoat verilebilir [30].

2.3.1.4. Isıl İşlem

Isıl işlem sırasında uygulama sıcaklığı 72-75°C arasında değişiklik göstermektedir. Bu ürünler ısıl işlemine göre sterilize ve pastörize olarak kategorize edilirler. Steril olanları su aktivitesi değerleri daha yüksektir. Steril ürünlerde çoğu zaman paketlemenin getirdiği zorluklar nedeniyle aseptik olarak ambalajlanamamaktadırlar. Örneğin üçgen alüminyum folyolu krem peynirler. Isıl işlem sırasında pişirme zamanı karışımındaki tazelik ve olgunluk oranına göre 12-18 dk. arasında değişir. Buhar basıncını yüksek tutmak pişirme süresinin uzaması ya da kısılmasına neden olur. Sıcaklık 60°C civarında iken vakum işlemine geçilir. Vakum altında sıcaklık 90-95°C'ye kadar yükseltilerek eritme işlemi tamamlanır. Vakum sayesinde hava kabarcıklarının oluşmasının engellenebileceği ve hammaddeden kaynaklanan kokuların giderilebildiği bilinmektedir [29, 32]. Üretim genelde kesikli ve sürekli çalışan pişirme kazanlarında gerçekleştirilir, bu kazanların kapasiteleri genelde 10-100 litre arasında değişmektedir. Genellikle çift cidarlı olarak tasarlanmışlardır. Direkt ve indirekt ısıtma yapabilirler. Kademeli olarak artan iki üç farklı hızda karıştırıcıları mevcuttur [29]. Peynir genellikle pastörize edilmiş olarak kullanılır. Çünkü uygulanan sıcaklık derecesi 65-71°C arasında olduğu için

patojenler öldürülmüş olmaktadır. Bu şekilde paketlenen peynirler oda sıcaklığında yavaşça soğutulduğu için sıcaklığın ve asidin mikroorganizmalar üzerine öldürücü etkisi uzamaktadır.

2.3.1.5. Homojenizasyon (Opsiyonel)

Peynirlerde homojenizasyon ile

- Çözünmeyen bileşenlerin çözünmesi sağlanır,
- Karışımın yapısı daha düzenli ve sert olur,
- Yağ globüllerinin boyutları küçülür bu sayede ürünün stabilitesi artar,
- Ürünün yapısı sağlamlaşır.

Ancak eritme peynir üretiminde kullanılan pişirme kazanlarında karıştırıcıların olması nedeniyle ekstradan bu işlem yapılmamaktadır [30].

2.3.1.6. Paketleme

Eritme makinesinden çıkan erimiş taze peynirin ambalajlanması için otomatik doldurma makineleri geliştirilmiştir. Bu makineler paketleme ve etiketleme işlemini birlikte yaparlar. Büyük kapasiteli peynir işletmelerinde peynir paketleme kısmına pompa ile sevk edilir. Küçük işletmelerde eritme peyniri kazandan doğrudan paketleme kısmına aktarılır. Paketleme makineleri eritme makinelerine bağlı olup üretimin sürekli olmasını sağlarlar. Porsiyonlanan peynirler tek ve çift katlı folyolarla sarılır ya da gramajlanarak kâselere doldurulur ve kapatılır. Genellikle bu işlemde laklanmış alüminyum folyolar kullanılır [29, 32].

2.3.1.7 Soğutma

Krem peynirlerin istenilen tekstür özelliklerinin oluşmasında soğutma işleminin önemi oldukça fazladır. Şöyleki peynirlerin soğutulma oranı ve hızları oluşacak olan yapıyı etkileyebilmektedir. Sürülebilir nitelikteki krem peynirler kısa sürede soğutulurken, blok tipi olması durumunda da yavaş soğutulmakta böyle daha sağlam yapılı bir ürün oluşmaktadır [28]. Peynirlerin soğutulması sırasında yapıda oluşan değişimler; protein iplikçikleri ile yağ globülleri arası etkileşim, süt yağının kristalizasyonu, kalsiyum kazeinat komplekslerin de amorf yapının oluşumu şeklinde meydana gelmektedir [30].

2.3.1.8. Depolama

Sıcak dolum yapıp kapatılan krem peynirlerde genel olarak 4-8°C sıcaklıkta 3 aylık bir raf ömrü vardır [33].

2.3.2. Krem Peynirlerde Görülen Bozulmalar

Spor formdaki bakterilerden *Colostridium sporogenes* en çok bozulmaya neden olan mikroorganizmalardır. Bu mikroorganizmalar laktoz fermantasyonuyla yoğun miktarda gaz üretme gücüne sahip oldukları için eritme peynirlerinde şişmeye ve gaz çıkışına sebep olurlar. Bu da istenmeyen bir durumdur. pH'nın kontrol altında bulundurulması ve tuz konsantrasyonunun belirli bir seviyede olmasıyla güvence sağlanabilir. Bu tuz konsantrasyonu % 2-8,4 arasında olmalıdır. pH ise 6,0-7,0 üzerine çıkmamalıdır [32].

2.4. Tezin Amacı

Ülkemizde üretim teknolojisi konsepti gereği, artmış peynirler, istenilmeyen (kabuk) kısımlarının uzaklaştırılmasından sonra krem peynir üretiminde değerlendirilebilmektedir ve bu bağlamda sıklıkla tüketilen krem peynirlerin kalitelerinin ve olası toksikolojik madde düzeylerinin izlenmesi önemli olmaktadır.

Çalışma kapsamında, ultrasound prosesinin krem peynirlerin kalite özellikleri ve olası siklopiazonik asit (CPA) mikotoksin düzeyi üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEMLER

3.1. Materyal

Çalışmamızda kullanılan krem peynirler Antalya ilinde bulunan ülkemizin önemli peynir markalarından olan Ekiciler Süt Gıda Tarım Hayvancılık Sanayi ve Ticaret Anonim Şirketinde (Ekici Peynir), firmanın piyasaya satılmakta olan krem peynirlerinin standart reçetesine uygun olarak üretilmiştir. Örnekler analiz edilecekleri ana kadar soğuk zincirde (+4°C) muhafaza edilmiştir. Örneklerimizde üretim sırasında uygulanmış olan ultrasound işleminin krem peynirlerde kuru madde miktarı, yağ miktarı, protein miktarı, pH değeri ve renk değerleri, maya-küf sayısı, toplam canlı, koliform, *Enterobacter* sayıları ile CPA mikotoksini düzeyinde meydana getirdiği değişimler araştırılmıştır.

3.1.1. Standart Mikotoksin Çözeltilisinin Hazırlanması

Siklopiazonik asit (CPA, C₂₀H₂₀N₂O₃) (≥ 98% (HPLC) saflıkta), Sigma Chemicals Co.'dan (Germany) (CAS: 18172-33-3) temin edilmiştir ve CPA ana stok çözeltisi, % 98 saflıkta olduğu göz önüne alınarak 5 mg/4,9 ml metanol (1000ppm) içinde hazırlanmış olup, karanlıkta -18°C'de depolanmıştır. İyi bir bulaştırma yapabilmek için her konsantrasyon grubundan en az 100 µl CPA çözeltisi olacak şekilde sistem oluşturulmuştur. İlk olarak 1000 ppm lik ana stoktan 100 µl çekilerek 1 ml'ye metanol ile tamamlanarak 100 ppm lik ara çalışma çözeltisi hazırlandı. 100 ppm lik çözeltiden de 100 µl çekilerek 1 ml'ye metanol ile tamamlanarak 10 ppm lik ara çalışma çözeltisi hazırlandı. Son olarak ise 10 ppm lik çözeltiden de 100 µl çekilerek 1 ml'ye metanol ile tamamlanarak 1 ppm lik diğer ara çalışma çözeltisi hazırlandı. Kullanılan tüm reaktifler ve organik çözücüler, HPLC saflıkta olup kullanılmadan önce 0.45 µm'lik filtreden (Whatman Limited, Maidstone, UK) süzölmüştür.

3.2. Metot

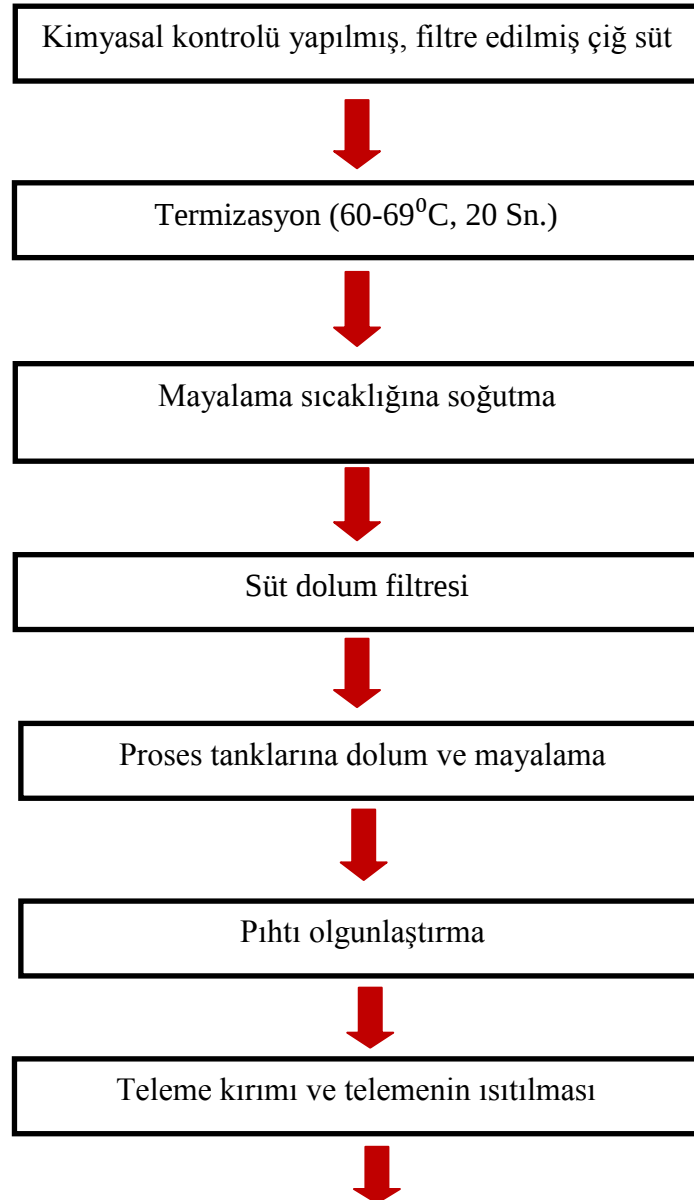
3.2.1. Krem Peynir Üretiminde Ultrasound Teknolojisinin Uygulanması

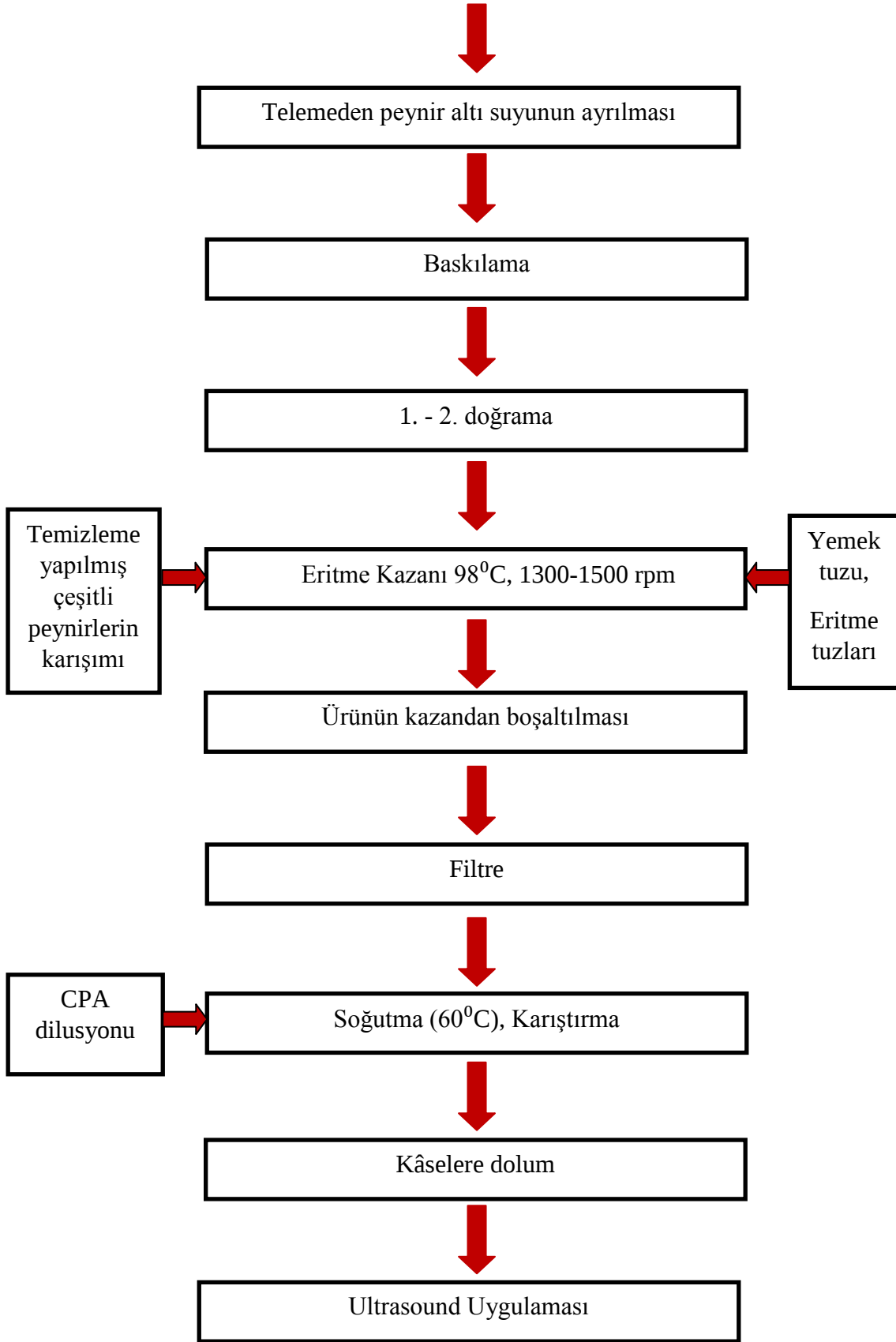
Krem peynir üretimi EKİCİ A.Ş., Antalya fabrika tesislerinde gerçekleştirilmiştir. Krem peynir eritme kazanlarında 13 dk. 98°C, 1300-1500 rpm de eritilip homojenize edildikten sonra 78°C karıştırılarak soğutulmuş ve her biri 150 g olacak şekilde PP ambalajlarına dolum yapılmış olup, dolumu takiben peynir

örnekleri ultrasound işlemi uygulamak üzere laboratuvara alınmıştır. Ultrasound uygulaması, olası sıcaklık artışı da göz önüne alınarak $24\pm1^{\circ}\text{C}$ 'lik su banyosu eşliğinde gerçekleştirilmiştir.

Sıcaklığı düşürülen peynirlere Hielscher UP 400 modeli Ultrasound cihazıyla 1, 3, 5 dk. süreyle 70-100 amplitude, 20 KHz, 100-150 W güç aralığı değerinde 14'lük titanyum alaşım sonatrot kullanılarak ultrasoundla ikincil bir homojenizasyon işlemi uygulanmıştır. Uygulamadan sonra peynirler kapatılarak $+4^{\circ}\text{C}$ de muhafaza edilerek analize alınmıştır.

3.2.2 Krem Peynir Örneklerine Belirli Konsantrasyon Aralıklarında Siklopiazonik Asit Yükleme İle Kontaminasyon Ve Ultrasound Uygulaması





Şekil 3.1. Krem Peynirlere CPA katma (Spiking) uygulaması

US uygulamasının CPA düzeyine olabilecek etkilerini araştırmak adına şekil 3.1.'de şematiteze edilen, manuel olarak belirli konsantrasyonlarda peynir örneklerine CPA (spiking) katılmıştır. Bulaştırma işlemi için, sıcaklığı 60°C olan krem peynirden blendıra 100'er gram tartılmıştır. 100 ppb düzeyinde katma için 100 ppm'lik seyreltiden 100 µl çekilerek 100 g krem peynire aktarılmıştır. 10 ppb düzeyinde katma için 10 ppm'lik seyreltiden 100 µl çekilerek 100 g krem peynire aktarılmıştır. 20 ppb düzeyinde katma için 10 ppm'lik seyreltiden 200 µl çekilerek 100 g krem peynire aktarılmıştır. 7 ppb düzeyinde katma yapmak için 1 ppm'lik seyreltiden 700 µl çekilerek 100 g krem peynire katılmıştır. 5 ppb düzeyinde katma için 1 ppm'lik seyreltiden 500 µl çekilerek 100 g krem peynire aktarılmıştır. 2 ppb düzeyinde katma için 1 ppm'lik seyreltiden 200 µl çekilerek 100 g krem peynire aktarılmıştır. CPA'nın homojen dağılımını sağlamak için yüklemeler 2-3 dk. blendırdan geçirilmiş ve şekil 3.2.'de görölen steril polipropilen 200 ml'lik numune kaplarına aktarılmıştır. Her bir geçişte alet ve ekipmanlar sterilize edilmiştir. Tüm konsantrasyonlardan (2, 5, 7, 10, 20, 100 ppb) 6'şar adet katma oluşturulmuştur [34].



(Foto:Bölük, İ., 2015)

şekil 3.2. Katma (spiking) uygulanmış örnekler

Daha önce peynirlerin fizikokimyasal özelliklerine etkileri üzerine ve CPA düzeylerinin US kullanılarak değişimi üzerine bir çalışmaya literatürde rastlanılmamış olup çalışmamızda 14'lük sonatrod (tamamen titanyumdan yapılmış dip kısım çapı 14 mm, uzunluğu 100 mm, 100 ml - 2000 ml örnek karıştırma kapasitesinde) ile sürekli çalışma konumunda 20 kHz, 100-120 W güç değerlerinde 1-3 dk. uygulamaları yapılmıştır. Ultrasound uygulaması şekil 3.3'de göröldüğü gibi 60°C'deki peynir örneklerine 200 ml'lik kapları içerisinde olası sıcaklık artışı da göz önüne alınarak 24±1°C'lik su banyosu eşliğinde gerçekteştirilmiştir [35].



Şekil 3.3. Katma (spiking) uygulanmış örneklere ultrasound uygulaması

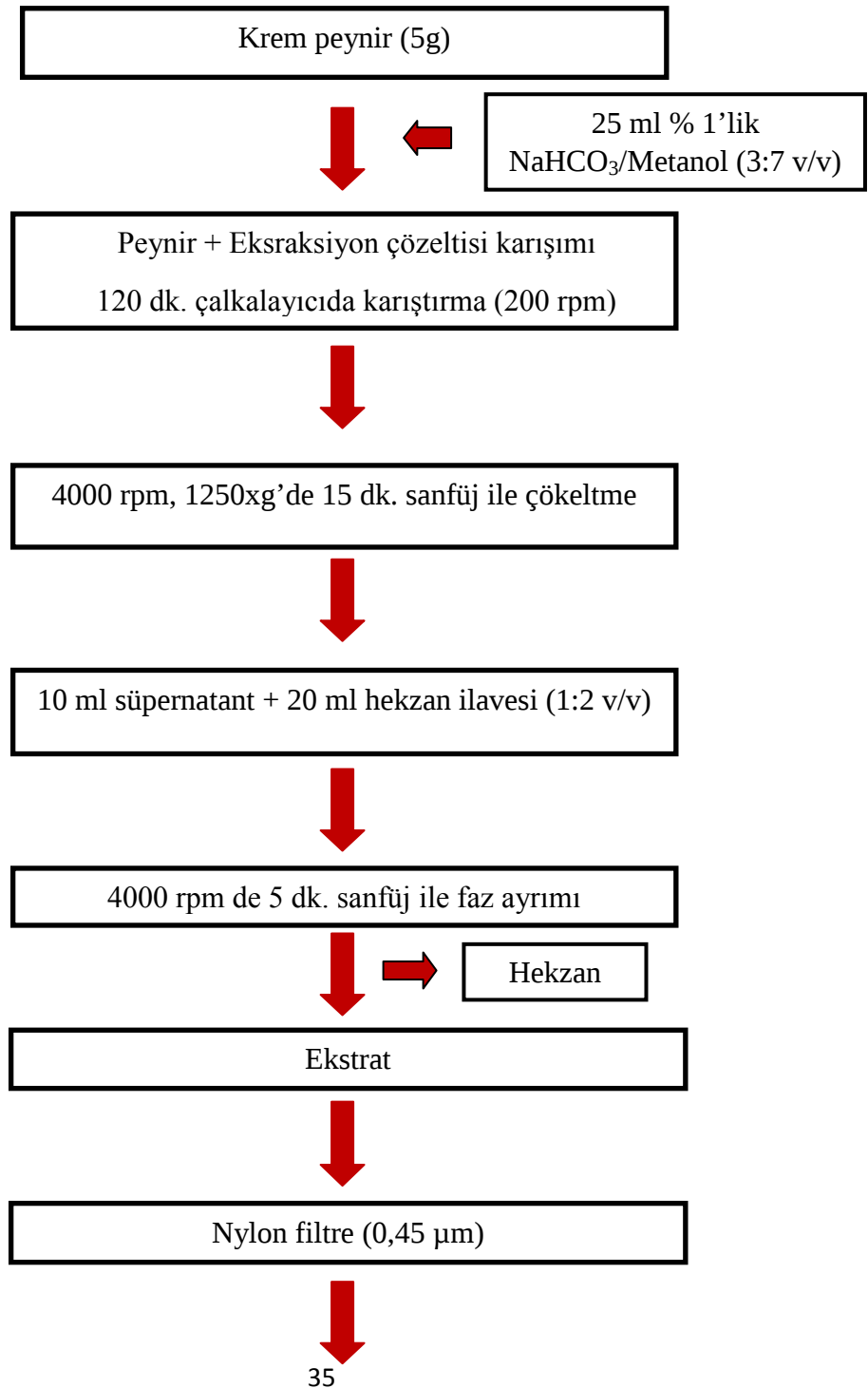
3.2.3. Ekstraksiyon

Krem peynir örneklerinin CPA ekstraksiyonu için uygulanan yöntem, Angel ve ark. [36] tarafından kullanılan yöntem baz alınarak modifiye edilmiştir. Ekstraksiyon için 5 g krem peynir tartılmıştır, çözelti karışımında kullanılmak üzere saf suyla % 1'lik NaHCO_3 (Sodyum bikarbonat) çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözeltiden 30 ml alınarak 70 ml metanol üzerine eklenmiş (70+30) ve ekstraksiyon karışımı hazırlanmıştır. Oluşturulan bu karışımdan 25 ml alınmıştır. Tartılan peynir örnekleri (5g) ile 25 ml karışım (1:5) Şekil 3.4. ve 3.5.'deki gibi çalkalamalı karıştırıcıda (KS 501 Dijital IKA-WERKE) oda sıcaklığında 200 rpm'de 120 dk. çalkalanarak ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Karışım daha sonra 15 dk. süre ile 4000 rpm 1250xg'de santrifüj edilerek çökeltisinden ayrılmıştır. Elde edilen sıvı fazdan 10 ml alınarak üzerine 20 ml hekzan eklenmiş (hekzan+örnek, 1:2 oranında) ve çalkalamayla yağı çözündürülerek hekzan içerisine alınmıştır. Faz ayrımı için de 4000 rpm 5 dk. santrifüj edilmiştir. Faz ayrımı netleştikten sonra hekzan enjektörle uzaklaştırılmış ve krem peynir ekstraktları ilave bir saflaştırmaya tabi tutulmadan 0,45 μm 'lik şırınga filtrelerden (Whatman Limited, Maidstone, UK) geçirilerek 5'er ml viallere aktararak ağzları kapatılmış, -18°C 'de analiz için muhafazaya alınmıştır.



(Foto:Bölük, İ., 2015)

Şekil 3.4. Siklopiazonik asitin ekstraksiyon aşamasında kullanılan cihazlar





Şekil 3.5. CPA analizi için krem peynir örneklerine uygulanan ekstraksiyon yöntemi

3.2.4. LC-MS/MS

Sikolopiazonik asitin varlığının ve miktarının belirlenmesi amacıyla Şekil 3.6.'da görülen LC-MS cihazı kullanılmıştır. Temel kromatografik proses örnek moleküllerinin hareketli faz ve sabit faz arasında paylaşılmasından ibarettir. Sıvı kromatografisinde sabit faz bir kolonda bulunur ve hareketli faz onun üzerinden akar veya pompalanarak akıtılır. Örnekte ayrılacak iki bileşik kolondan farklı hızlarda ilerlemektedir.

Kütle spektrumu ise örnekteki bileşiklerin kolaylıkla hareket edebilen iyonlara (çoğunlukla pozitif) dönüştürülmesi ve bu iyonların kütle/yük oranına göre sıralanmasıyla elde edilir. Spektral veriler, bazı bakımlardan, infrared ve NMR spektrallardan daha kolay tanımlanır; çünkü bilgiler, bir örneğin, yapısal bileşiminin moleküler kütlesi cinsinden ifade edilir. Ayrıca verilerden analitin molekül ağırlığı da doğru olarak saptanabilir. Kütle spektrası kompleks karışımların kantitatif analizlerinde de kullanılır. Burada, değişik kütlelerdeki iyon akımlarının konsantrasyonla olan ilişkisinden yararlanılır [37].



(Foto:Bölük, İ., 2015)

Şekil 3.6. Analizde kullanılan LC-MS Cihazı (AGPUR Lab., İzmir)

LC/MS; HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) ve MS (Kütle Spektrometresi) ünitelerinin birlikte çalıştırılarak yapı aydınlatması ve miktar tayininde kullanılan bir cihazdır. Ayrıca HPLC ve MS üniteleri birbirinden bağımsız olarak da çalışabilmektedir.

HPLC Ünitesi (1260 Infinity Dörtlü Gradient): Pompa, autosampler ve dedektör olmak üzere başlıca üç kısımdan oluşmaktadır.

1. LC Pompası: Maksimum akış hızı 5 ml/dk 'dır. Basınç aralığı 0-600 bar 'dır. Pompalayabileceği solvent kapasitesi dördttür. Pompa, mobil fazlarda mevcut çözünmüş gazların giderilmesi için “Gaz Giderici Sistem” içermektedir.
2. Autosampler: Numunelerin otomatik olarak enjekte edilmesini sağlar. Kolon fırınının (5-80°C) ve örnek sıcaklığının (0-60°C) kontrolü mümkündür.
3. Dedektör: DAD (Diode Array Dedector) dedektör, ultraviyole ve görünür alanda çalışır.

MS Ünitesi (6400 Series Triple Quadrupole LC/MS): İyon kaynağı, kütle analizörü ve iyon dedektör sistemi olmak üzere başlıca üç kısımda incelenmektedir.

1. ESI (Electrospray Ionization) iyonizasyon tekniği uygulanmaktadır.
2. Kütle Analizörü: İyon kaynağından gelen iyonlar, kütle analizöründe değişen elektrik alana tabi tutularak m/z (kütle/yük) oranlarına göre ayrılırlar.
3. MS İyon Dedektör Sistemi: MS dedektörü yüksek duyarlılığa sahip, pozitif ve negatif iyon modlarında çalışan bir iyon dedektör sistemidir. Analiz için C 18 kolonu (Agilent poroshell 120 EC- C18 3,0*150 mm*27 mikron), 5-95°C kolon sıcaklığının ayarlana bildiği ve otomatik örnek alım ünitesi (1260 Infinity Standard Autosampler) içeren zıt faz sıvı kromatografisi kullanılarak Agilent,1260 Infinity Quaternary LC System, (CA, USA) gerçekleştirilmiştir. Kolonda ayırma işlem için metanol/ amonyum format (30/70, v/v) kullanılmıştır. Analiz işleminde bu çözelti 15 dk. süre kolondan geçirilmiştir, akabinde % 30 luk saf metanol ile kolon yıkanmıştır. Kolonda çözelti akış hızı 0,5 ml/dk. ve kolon sıcaklığı 40°C olacak şekilde ayarlanmış ve bu akış hızında kolona otomatik örnekleme cihazı ile 5 µl örnek enjekte edilmiştir.

Tablo 3.1. CPA Tesbitinde LC-MS analizi metodolojisi

HPLC	: Agilent 1260 Infinity Quaternary LC System
Kolon	: Agilent poroshell 120 EC- C18 3,0*150 mm*27mikron
Mobil Faz	: Yıkama sıvısı A : Su 5mM amonyum format, Yıkama sıvısı B :Metanol
Akış	: 0,5 ml/dk.
Kolon Sıcaklığı	: 40 ⁰ C
Enjeksiyon Hacmi	: 5µl
Analiz Süresi	: 15 dk.
Dedektör	: Agilent 6460 LC-MS 3 lü 4 Kanallı
İyonizasyon Modu	: ESI
Polarite	: Pozitif
Kurutma Sıcaklığı	: 325 ⁰ C
Çarpışma Gazı	: 11 l/dk.
İyon Sprey Voltajı	: 4000V

3.2.5. Üretilen Peynir Örneklerindeki Kalite Karakteristiklerinin Belirlenmesi İçin Analize Hazırlanması

Mikrobiyal, fizikokimyasal ve tekstürel analizler için üretimi tamamlanıp üretim şartlarında sıcaklığı 16⁰C civarlarına düşen ve daha sonra soğuma ve muhafazası için 4⁰C dolaplarda depolanan 150 g lık kapaklı PP ambalajlarda olan peynirler kullanılmıştır. Mikrobiyal ekim için aseptik şartlar sağlanmıştır.

3.2.6. Üretilen Peynir Örneklerindeki Kalite Karakteristiklerinin Belirlenmesi

Mikrobiyolojik analiz olarak krem peynirlerinde *E. coli*, *Enterobacter*, koliform, küf, maya, toplam canlı düzeyleri belirlenmiştir. Fizikokimyasal test olarak peynirlerde toplam kuru madde, yağ, pH, renk değerleri (L^* , a^* , b^*) ve tekstürel olarak örneklerde sertlik, konsistens, yapışkanlık ve viskozite belirlenmiştir. Analizler, üretimi takip eden gün ve haftada gerçekleştirilmiştir. Her analiz 2 tekerrür, 3 paralel olarak çalışılmıştır.

3.2.6.1 Toplam Kurumadde, Yağ, Protein Miktarları

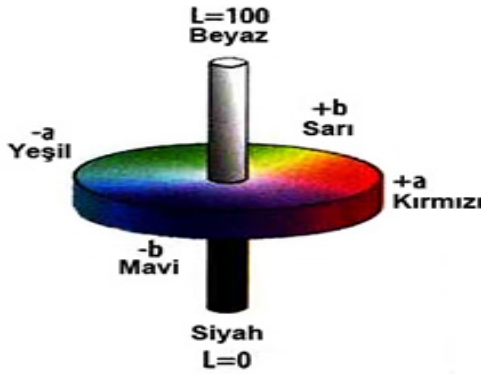
Çalışmamızın bir parçası olan US uygulamaları sonucunda krem peynirlerin temel bileşenlerinde meydana gelen değişimler, protein miktarları için Dumas Nitrogen Analyzer - NDA 701, TKM ve yağ miktarları AOCS (1999) ve ISO (2001)'ya uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.6.2. pH Değeri

Peynirlerin pH değerleri gerek üretim sırasında gerekse üretimden sonra dijital pH metre (WTW, Almanya) ile kontrol edilmiştir. Okuma için peynirler homojen yapıda olduğundan elektrotun ucu direkt olarak peynir içerisine daldırılmıştır.

3.2.6.3. Renk Değeri

Peynirlerde renk değerleri şekil 3.7.'de görülen kromometre cihazı (Konica Minolta CR-300, Chroma Meter) ile belirlenmiştir. Okuma ise L* parlaklık ve koyuluk, a* kırmızılık-yeşillik ve b* değeri de sarılık-mavilik hakkında bilgi vermektedir. Peynir örnekleri, cihaz kaplarına düzgünce yayılmış ve renk değerleri ölçümlenmiştir. Her analiz 2 tekerrür 3 tekrar olarak çalışılmıştır [19].



(Foto:Bölük, İ., 2015)

Şekil 3.7. CIE renk skalası ve renk ölçümü

3.2.6.4. Tektürel Analizler

Fabrikada üretimi yapılmış ve satışa sunulduğu 180 g'lık PP kaplarında +4°C'de depolanmış olan, Şekil 3.8.'de



Şekil 3.8. TA-XT Plus tekstür analiz cihazı

görülen krem peynirlerin analizden önce sıcaklığının 15-16°C'ye gelmesi sağlanmış ve TA-XT Plus tekstür analizörü (Stable Micro Systems, Surrey, UK) ile ölçümleri yapılmıştır.



(Foto:Bölük, İ., 2015)

özellikleri değerlendirilmiştir. Her analiz 2 tekerrür 3 paralel olarak çalışılmıştır.

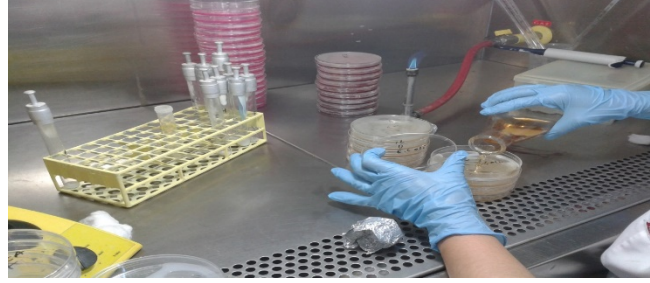
Çalışmamızda 35 mm çapında yoğurt ve krem peynir analizlerinde kullanılan disk düz başlı piston ile 5 g (0,049 N) triger kuvvetinde 1 mm/s hızda 20 mm'lik penetrasyon ile çalışılmıştır. Sertlik, konsistens, yapışkanlık, viskozite

3.2.6.5. Mikrobiyolojik Analizler

Tüm mikrobiyolojik analizler ISO (2001)'ya göre gerçekleştirilmiştir. Aseptik koşullarda 10 g peynir tartılmış ve üzerine 90 ml ringer çözeltisi ilave edilmiştir. Diğer dilüsyonlar bu hazırlanmış olan karışımdan seyreltilerek hazırlanmıştır. Genel olarak hijyen indeksi olarak kabul edilmekle beraber, ulusal ya da uluslararası standartlar ve tüzüklerde belirli gıda maddeleri için konulmuş limit değerleri olmayan *Enterobacter* sayımı için VRBD (Merck 1.10275) agar besi yerine ringer çözeltisiyle 10^{-1} seyreltme yapılmış dilüsyondan 1 ml alınıp paralel petrilere konuldu üzerlerine 50°C de önceden hazırlanmış VRBD agar 12,5 ml kadar dökülüp 37°C de 24 saat inkübe edilmiştir. Gelişen koyu kırmızı renkli etrafında zar oluşturan koloniler sayıldı.

E.coli ve toplam koliform sayımı için 3 farklı konsantrasyonda ardışık olarak hazırlanmış dilüsyonlardan 3'er adet paralel ekim için hazırlanmış MLSTB-MT (Lab M Limited, Lab 077) besiyerlerine EMS yöntemine göre ekimler yapılmış ve gelişim durumlarına göre tüpler (+) ve (-) olarak sayılmış EMS çizelgesinden yararlanılarak koliform grup ve UV lambasında ışıma durumuna görede *E.coli* sayısı belirlenmiştir. Maya-küf sayım için ringer çözeltisi ile hazırlanmış 10^{-1} dilüsyondan 0,1 ml alınıp içinde önceden 12,5 ml dökümü yapılmış ve katılaşmış DRBC (Merck 1.00466) agar bulunan petri kaplarına konularak drigalski spatülü ile yayma yapılmıştır ve 25°C'de 5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Yeşil miseller küf, beyaz parlak olanlar maya olarak sayılmıştır. Her bir örnekten 3 paralel ile çalışılmıştır. Toplam Mezofil Aerob canlı sayımı için ringer çözeltisi ile hazırlanmış 10^{-1} dilüsyondan 1 ml petri kaplarına konulup üzerlerine önceden hazırlanmış otoklavlanmış 12,5 ml PCA agar (Merck

1.05463) besiyeri dökölüp karıştırılmış ve 37⁰C de 48 saat inkübe edilmiştir. Her bir örnekten üç paralel ile çalışılmıştır. İnkübasyon sonunda beyaz-açık renkli kolonilerin sayımı yapılmıştır.



(Foto:Bölük, İ., 2015)

Şekil 3.9. Mikrobiyal ekimlerimizden bir kesit

3.2.6.6. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analiz amacıyla tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmış ve Duncan çoklu karşılaştırma testi ile % 95 güven aralığında örnekler arasında bir fark olup olmadığı SPSS (version 21.0.0, IBM) paket programı kullanılarak hesaplanmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Dört farklı tipte doğal peynir (kaşar, süzme, lor, yeni üretim teleme) tereyağı ve eritme tuzlarının firma reçetesine uygun karışımına ile üretildiği krem peynirlere üretim aşamasında, aynı güç koşullarında, 3 farklı sürede ultrasound uygulaması gerçekleştirilmiştir.

Ultrasound uygulanan peynirler, üretim partisinde olan peynirler gibi aynı süreçler izlenerek ambalajlanıp soğuk depolara alınmıştır. Krem peynir örneklerinin toksikolojik (CPA), fizikokimyasal, mikrobiyal, tekstürel, renk (L^*, a^*, b^*) özellikleri üzerine ultrasound uygulamasının etkilerini belirleme analizleri üretimi takip eden haftada gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda bir tür mikotoksin olan CPA'nın ultrasound prosesi etkisi ile ortadan kaldırılıp kaldırılamayacağı, inhibisyon düzeyi, krem peynirlerin kabul edilebilir kalitesi ve ultrasound etkisi sonrası dahada iyileşmiş bir homojenizasyon ve yapı elde edilip edilemeyeceği araştırılmıştır. Farklı sürelerde ultrasound uygulaması yapılarak maruziyet süresinin kaliteye ve mikotoksin düzeyine etkileri de irdelenmeye çalışılmıştır.

4.1 CPA Bulguları

Üretimi gerçekleştirilen krem peynirlerde CPA düzeyi, LC-MS metodu kullanılarak tespit edilmiş ve ayrıca üretilmiş peynirlere, CPA katma (spiking) yapılarak ve farklı sürelerde ultrasound uygulanarak, CPA miktarı üzerine olan etkiler irdelenmiştir.

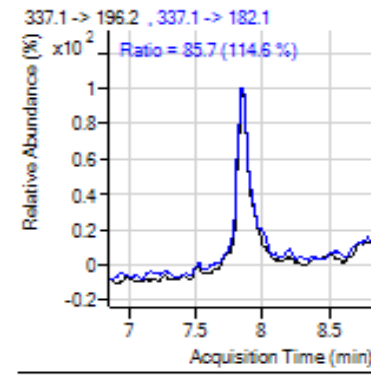
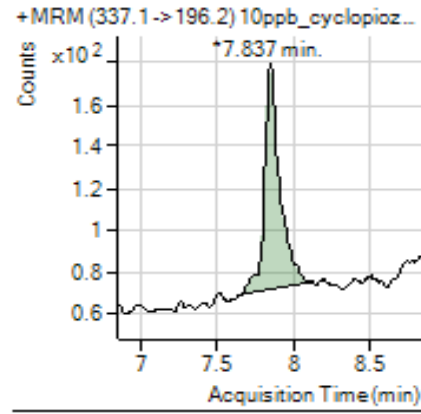
4.1.1. Üretilen Krem Peynirlerde CPA Varlığının Tespiti

Çalışmamızın bu bölümünde, peynirde yeni bir sorun olarak nitelendirilen siklopiazonik asit, peynir numunelerine ekstraksiyon işlemi uygulanması sonrası LC-MS cihazı kullanımı ile kantitatif olarak belirlenmiştir. Tablo 4.1.'de CPA'nın cihazda elde edilen kalibrasyon okumaları sonuçları ve Şekil 4.1.- 4.2.- 4.3.' de elde edilen pikler görülmektedir.

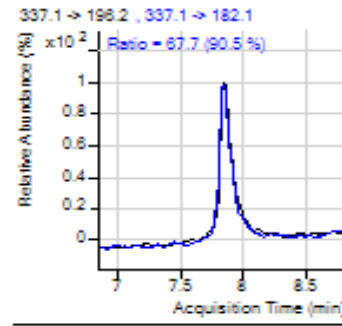
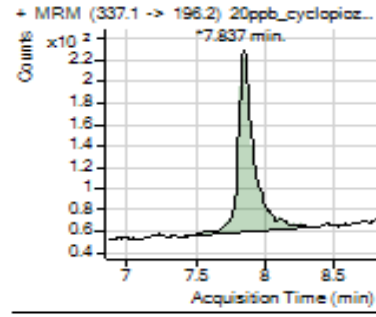
Tablo 4.1. CPA standard maddesinin HPLC kalibrasyonu

Konsantrasyon	RT	CPA Düzeyi ($\mu g/kg$)
10 ppb CPA	7.837	9.540
20 ppb CPA	7.837	19.966
50 ppb CPA	7.867	51.836
100 ppb CPA	7.867	100.347
200 ppb CPA	7.847	199.404
2 ppb CPA	7.928	0.904

10 ppb

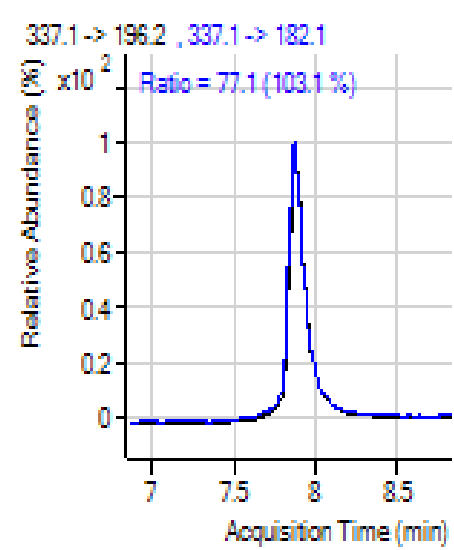
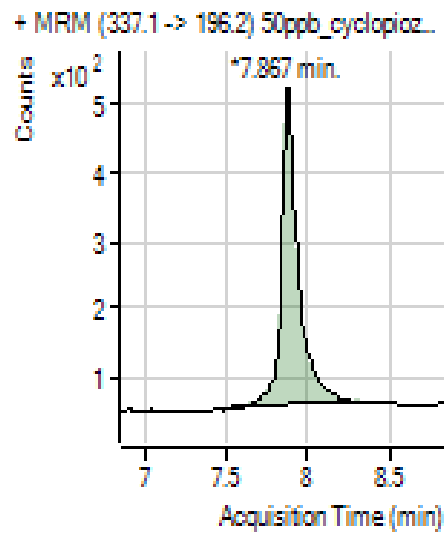


20 ppb

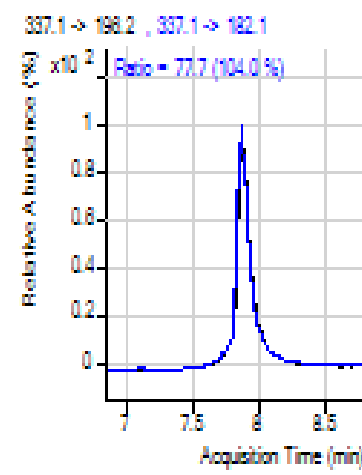
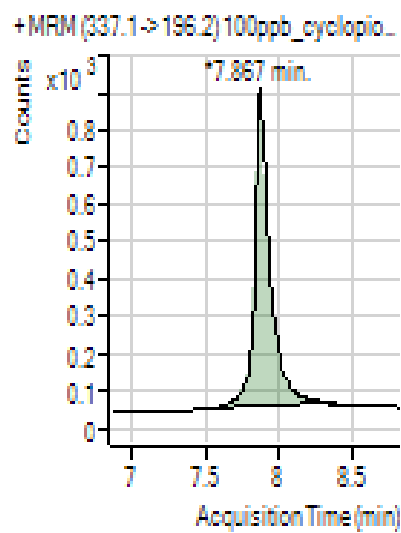


Şekil 4.1. CPA'nın 10 ve 20 ppb LC-MS kalibrasyonları

50 ppb

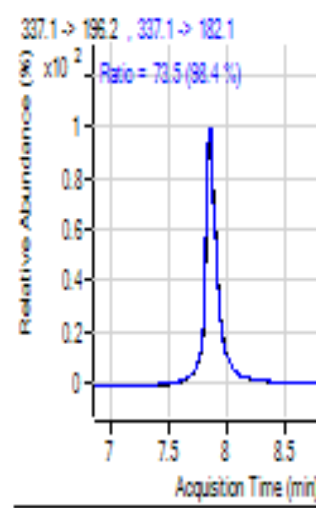
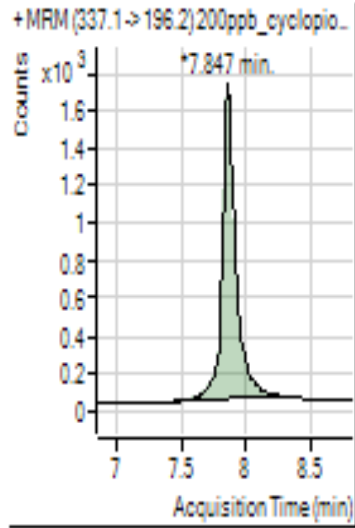


100 ppb

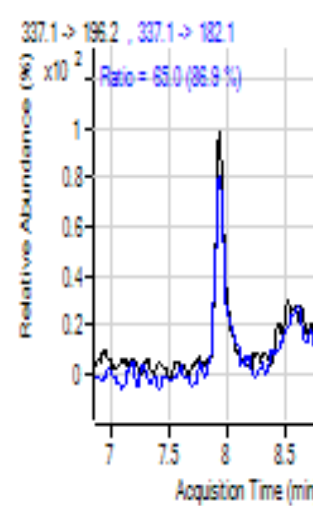
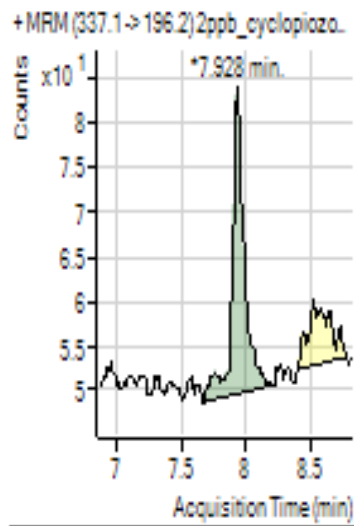


Şekil 4.2. CPA'nın 50 ve 100 ppb LC-MS kalibrasyonları

200 ppb



2 ppb



Şekil 4.3. CPA'nın 200 ve 2 ppb LC-MS kalibrasyonları

Tablo 4.2. Krem peynirlerde CPA düzeyi ($\mu\text{g/kg}$)

Kons.	RT	CPA Düzeyi ($\mu\text{g/kg}$)
Krem peyn. 1	7.888	$5,3240 \pm 1.250$
Krem peyn.2	7.523	$4,5863 \pm 0.950$
Ort.	7.706	$4,9551 \pm 1.100$
US Muameleli	7.959	SN*

*SN: Saptanamadi

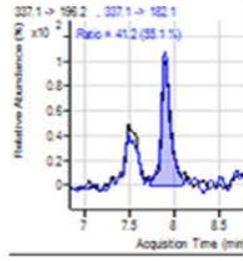
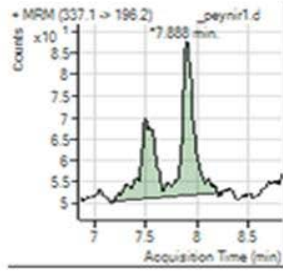
Elde edilen bulgular Tablo 4.2.'de ve pikler Şekil 4.5.'de görüldüğü gibi olmuştur. Buna göre analize alınan krem peynirlerde ort. 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ düzeyinde toksin miktarı saptanmıştır ve bu düzeye ultrasound ile muamele edilmiş örneklerde rastlanılamamıştır (Şekil 4.4.).



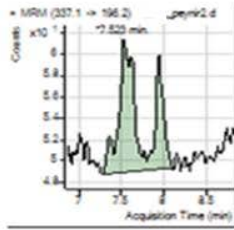
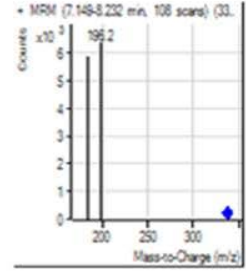
(Foto:Bölük, İ., 2015)

Şekil 4.4. Krem peynirlerde CPA analizi

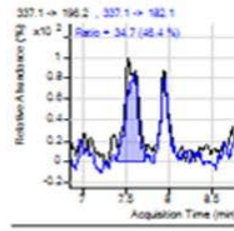
Krem Peynir (Kontrol Numune)



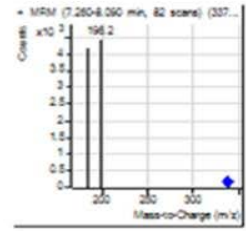
Krem Peynir (US Muameleli)



Kontrol 1



Kontrol 2



Şekil 4.5. Kontrol (US uygulanmamış) ve ultrasound uygulanmış krem peynirlerde LC-MS ile belirlenen CPA düzeyleri

HACCP uygulayan tesiste çalışma yapıldığından CPA düzeyi, krem peynirlerde ort. 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ düzeyinde bulgulanmıştır. Çalışmamızla, günlük 25 g krem peynir (iki adet üçgen peynir) tüketimiyle ort. 0.13 μg CPA absorpsiyonunun söz konusu olduğu bulgulanmıştır. Ancak merdiven altı üretim yapılan tesislerde ise sonuçların oldukça yüksek çıkması beklenmektedir ve dolayısıyla günlük krem peynir tüketiminde oldukça yüksek oranda CPA alımı olabileceği düşünülmektedir.

Tokuşoğlu ve ark. [37] tarafından yapılan bir çalışmada, söz konusu tesiste CPA düzeyi, beyaz peynirlerde ortalama 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ve süzme peynirlerde 2.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ olarak bulgulanmıştır ve sonuçlar Tablo 4.3.'te yer almaktadır. Bu noktada günlük 50 g beyaz peynir tüketimiyle (bir kibrit kutusu tüketimle) ort. 0.15 μg CPA ve günlük süzme peynir tüketimiyle (bir kibrit kutusu tüketimle) ort. 0.12 μg CPA absorblanacaktır.

Tablo 4.3. Beyaz ve süzme peynirlerde CPA düzeyleri [37]

Kons.	RT	CPA Düzeyi ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Beyaz peyn. 1	7.888	5.2246 ± 1.050
Beyaz peyn.2	7.523	0.9315 ± 1.000
Ort.	7.705	3.078 ± 1.025
US Muameleli	7.959	SN*
Süzme pey.1	7.888	4.2246 ± 0.850
Süzme pey.2	7.523	0.8670 ± 0.900
Ort.	7.705	2.5458 ± 0.875
US Muameleli	7.959	SN*

*SN: Saptanamadı

Aspergillus flavusun özellikle *Aspergillus tamarii*'nin, ürettiği sekonder metabolit (mikotoksin) siklopiazonik asit (CPA) mikotoksin, kalsiyum bağımlı ATPaz'ların spesifik inhibitörü olmaktadır ve insan ve hayvanlar için toksik etkili metabolit olmaktadır. Siklopiazonik asidin hepatoksik, karsinojenik ve neurotoksik etkileri olduğu belirtilmektedir [24].

İtalya'da yapılan bir çalışmada, beyaz peynir yüzeylerinde bulunan CPA miktarı katı faz mikroekstraksiyonu ile ortaya konulmuş ve bu yöntemde 20-80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ düzeylerinde bir CPA miktarı tespit edilebilmiştir [8]. Fransa'da yerel pazarlarda satılan camembert peynirlerinde ince tabaka kromatografisi ile yapılan çalışmada ise peynirlerin küflenmiş kabuk kısımlarında 0,05-1,5 $\mu\text{g}/\text{g}$ aralığında değişen düzeylerde CPA'ya rastlanılmış olup bu değerlerin günlük peynir tüketimi göz önüne alındığında, sağlık için problem oluşturmadığını ifade etmişlerdir [7]. İtalyan yöresel peynirlerinden olan Taleggio tipinde CPA oluşumuna neden olan suşlar ile yapılan çalışmada peynirlerin kabuk kısımları ve iç kısımlarını incelemek üzere 6 peynir örneğinde çalışılmış ve beş tanesinde CPA ya rastlanılmış ve maksimum miktarın 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ olduğu belirtilmiş ayrıca yüzeydeki küf miktarı ile CPA miktarı arasında pozitif bir korelasyonun olduğu ortaya konmuştur [38].

4.1.2. Üretim Aşamasında CPA Katma (Spiking) Sonrası Ultrasound Uygulamasının Niteliğinin Değerlendirilmesi

Üretim aşamasında krem peynir bileşimine farklı konsantrasyonlarda (2, 5, 7, 10, 20, 100 $\mu\text{g/kg}$) düzeylerinde CPA katma işlemi gerçekleştirilmiş olup, farklı sürelerde (1, 3 dk.) laboratuvar ölçekli (lab-scale) ultrasound uygulaması yapılmış ve CPA miktarları üzerine etkiler irdelenmiştir.

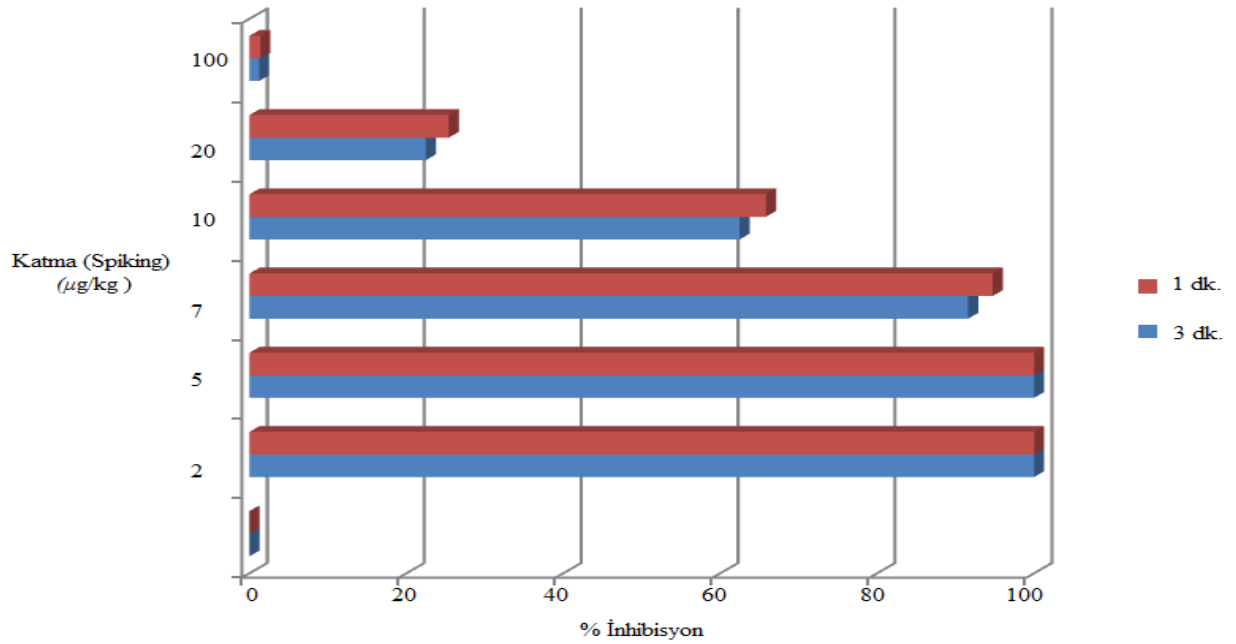
Kontrollü şartlarda üretimi yapılan krem peynir örneklerine CPA katılması işlemi eritme işleminden sonra dolum sıcaklığı olan 60°C de yapılmış olup blendırda karıştırma ve homojenizasyon işlemi uygulanmış ve polipropilen kaplara doldurulmuştur. Dolumu yapılan kaplara çeşitli sürelerde ultrasound uygulaması yapılarak kapakları kapatılmış ve soğumaya bırakılmıştır. Soğuyan kaplar analize alınıncaya kadar +4°C de muhafaza edilmiştir. CPA analizleri üretimi takip eden haftada gerçekleştirilmiştir. Yapılan analizlerin sonuçları Tablo 4.4.'de bir arada gösterilmiştir.

Tablo 4.4. CPA katılmış örneklerde US muamelesi ile meydana gelen değişimler

2 µg/kg			5 µg/kg			7 µg/kg			10 µg/kg			20 µg/kg			100 µg/kg		
CPA Katma (µg/kg)	US Muamele (µg/kg)		CPA Katma (µg/kg)	US Muamele (µg/kg)		CPA Katma (µg/kg)	US Muamele (µg/kg)		CPA Katma (µg/kg)	US Muamele (µg/kg)		CPA Katma (µg/kg)	US Muamele (µg/kg)		CPA Katma (µg/kg)	US Muamele (µg/kg)	
	1 dk.	3 dk.		1 dk.	3 dk.		1 dk.	3 dk.		1 dk.	3 dk.		1 dk.	3 dk.		1 dk.	3 dk.
2,28	SN*	SN*	5,63	SN*	SN*	7,45	0,63±0,1	0,39±0,04	10,93	4,1±0,16	3,74±0,0	20,52	15,91±0,1	15,3±0,09	100,72	99,49±0,50	99,34±0,05

*SN: Saptanamadı

Tablo 4.4.'de yapılan çalışmalar neticesinde 2 µg/kg ve 5 µg/kg düzeylerinde CPA katılmış örneklerde 1 ve 3 dk. uygulamaları ile %100 inhibisyon sağlandığını göstermektedir. Bu durum son derece başarılı olarak değerlendirilmiştir. 7 µg/kg düzeyinde katılmış olan peynir örneklerinde 1 dk uygulaması ile % 91,63, 3 dk. uygulaması ile % 94,73 oranında inhibisyon sağlanmasında iyi bir netice olarak değerlendirilmiştir. 10 µg/kg düzeyinde görülen % 50 ve üzerinde görülen inhibisyon iyi bir netice olarak değerlendirilmiştir. 20 µg/kg düzeyinde görülen % 20 ve üzerindeki inhibisyonda başarılı olarak kabul edilmiştir. 100 µg/kg düzeyinde CPA katılmış örneklerde ise uygulamalarda % 1 üzerinde bir inhibisyon sağlanmış olup bu mikotoksinlerin parçalanabilirliğini olması bakımından olumlu bir sonuç olarak kabul edilmiştir. Şekil 4.6. ultrasound uygulamasından sonra CPA düzeylerinde sırasıyla ortalama % 100, % 100, % 93, % 64, % 23 ve % 1 lik bir azalmanın olduğunu göstermektedir. Yine Şekil 4.6.'da görüldüğü gibi 2 ve 5 µg/kg gibi düşük düzeylerdeki CPA miktarlarında % 100 oranında bir inhibisyon sağlanmıştır.



Şekil 4.6. CPA katılmış örneklerde US muamelesi ile meydana gelen yüzde değişimler

Yapılan uluslararası literatür taramasında peynirlerde bulunan CPA varlığının US kullanılarak inhibe edilmesi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Tokuşoğlu ve ark. [37] tarafından yapılan beyaz ve süzme peynirlere uygulanan US ile süzme peynirlerde ortalama tespit edilen 2,5 µg/kg ve beyaz peynirlerde ort. 3 µg/kg düzeyinde rastlanılan CPA miktarlarındada çalışmamıza benzer olarak % 100 lük bir inhibisyon sağlanmıştır.

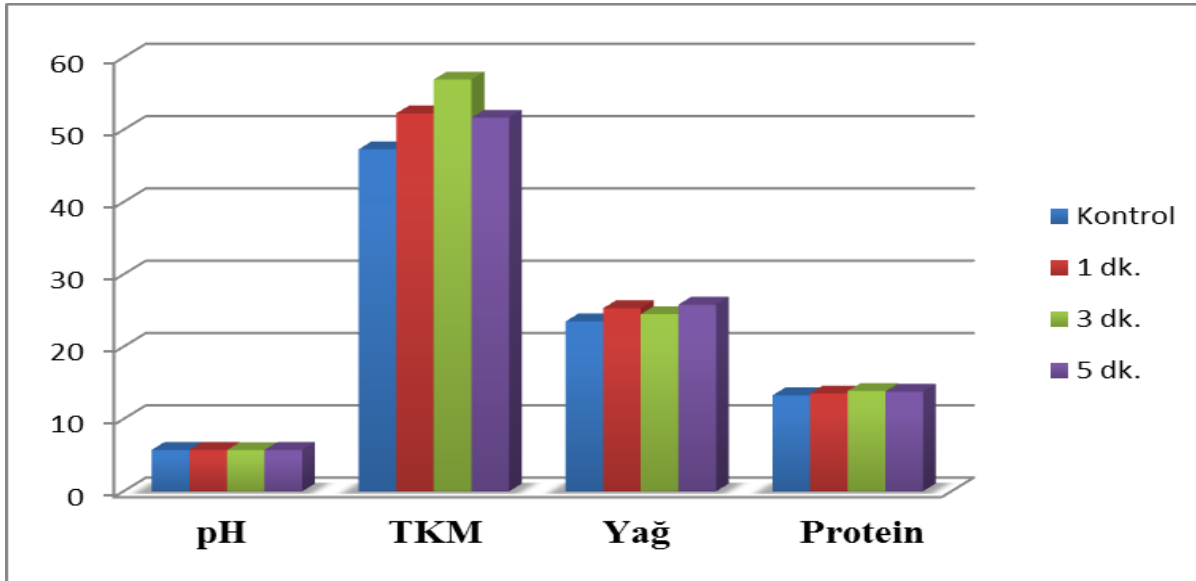
4.2. Peynir Örneklerinin Fizikokimyasal Özelliklerinin Ultrasound İle Değişimi

Çalışmamızın bir parçası olan US uygulamaları sonucunda krem peynirlerin bileşiminde ve pH'ında meydana gelen değişimler Tablo 4.5. ve Şekil 4.7.'de bir arada görülmektedir.

Tablo 4.5. Kimyasal analiz sonuçları

Uygulama	pH	TKM	Yağ	Protein
Kontrol	5,74±0,36 ^a	47,30±2,20 ^a	23,5±1,87 ^a	13,28±0,37 ^a
1 dk.	5,74±0,37 ^a	52,27±5,47 ^a	25,33±1,63 ^a	13,54±0,189 ^{a,b}
3 dk.	5,71±0,56 ^a	56,96±1,61 ^a	24,5±0,54 ^a	13,88±0,44 ^b
5 dk.	5,74±0,42 ^a	51,67±8,46 ^a	25,83±0,40 ^a	13,77±0,15 ^b

Not: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farklılığı göstermektedir. (n=6, p<0,05)

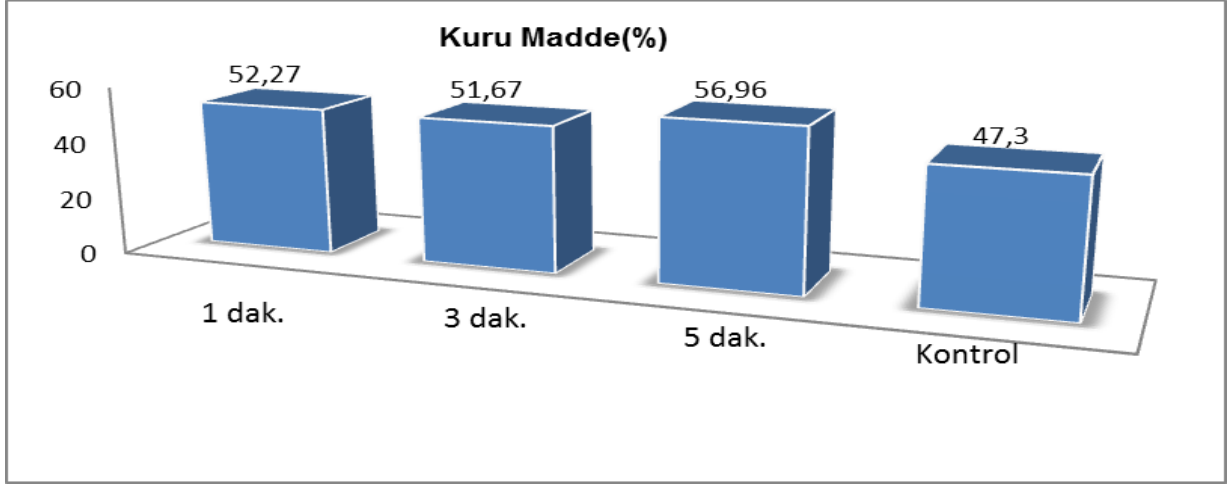


Şekil 4.7. Krem peynirlerde temel bileşen kompozisyonunun farklı sürelerde US ile değişimi

4.2.1. Kurumadde İçeriği

Üretimi gerçekleştirilen ve farklı sürelerde ultrasound uygulanan peynir örneklerinde kuru madde içeriklerinin 1, 3, 5 dk. uygulamalarıyla KM içeriklerinde kontrole göre meydana gelen değişimler sırasıyla % 10,5, % 9,23, % 20,42 olarak gerçekleşmiştir. Şekil 4.8'e bakıldığında 5 dk. ultrasound uygulanmış olan örneğin kuru madde miktarının % 20,42'lik

artışla en yüksek, ultrasound uygulanmamış olan kontrolün ise kuru madde içeriğinin en düşük düzeyde olduğu görülmüştür. İstatistiksel olarak ise uygulamalar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p<0.05$). Bu durumun uygulama sırasında meydana gelen ısınma ile hızlanan buharlaşmadan kaynaklandığı düşünülmektedir.

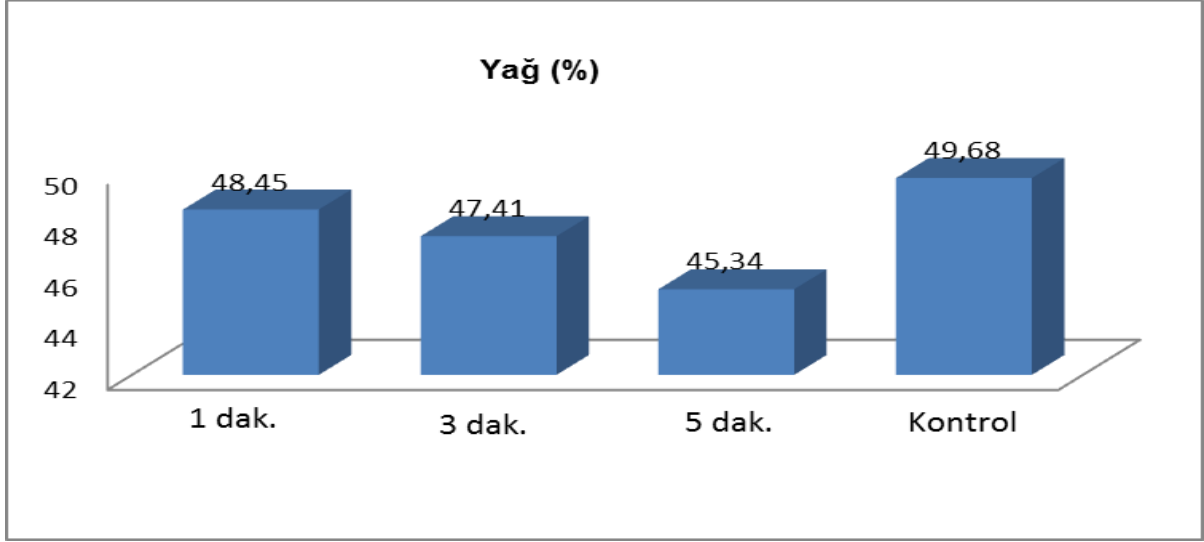


Şekil 4.8. Farklı sürelerde ultrasound uygulanmış krem peynir örneklerinin kuru madde miktarları

Yapılan literatür taraması sonucunda US uygulaması ile krem peynirlerde toplam kuru maddenin durumunun araştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

4.2.2. Yağ İçeriği

Kontrol krem peynirimizde kurumadde de yağ miktarı ortalama % 49,68 olarak bulunmuştur. Çalışmamıza konu olan uygulama sonucu krem peynir örneklerinde tespit edilen % yağ miktarları 1, 3, 5 dk. uygulamalarıyla sırasıyla Şekil 4.9.'da görüldüğü gibi % 48,45, % 47,41, % 45,34 olarak gerçekleşmiştir. Bu sonuçlarda uygulama ile birlikte kontrole göre ortalama yağ oranlarında azalmanın olduğunu göstermektedir. Bu durumun uygulama sırasında yağların moleküler yapılarında meydana gelen bozunmalardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.



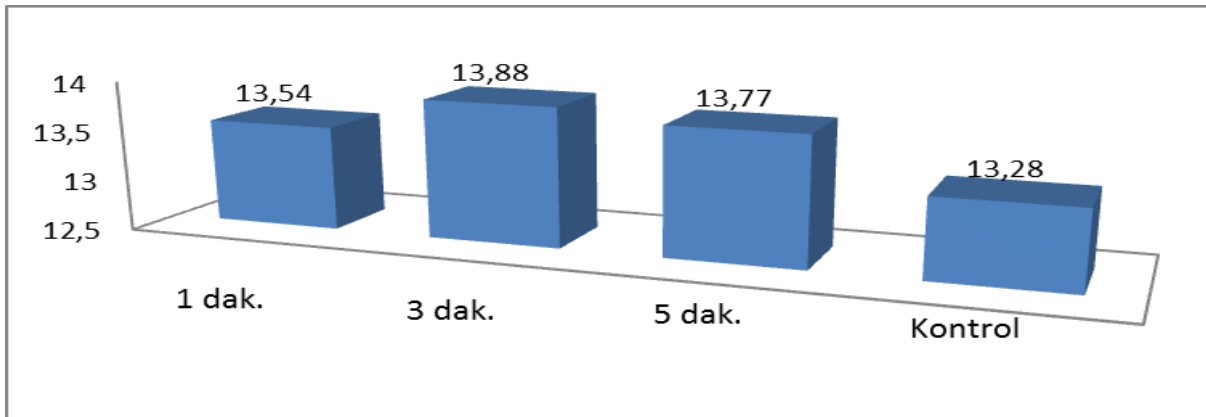
Şekil 4.9. Farklı sürelerde ultrasound uygulanmış krem peynir örneklerinin kuru maddede bulunan yağ oranları

Analizler sonucunda kontrole göre yağ miktarlarında meydana gelen en büyük değişim % 4,34 lük artış ile 5 dk. uygulaması ile elde edilmiştir. Bir başka ifade ile uygulama süresine paralel olarak elde edilen yağ miktarlarında bir azalış gözlemlenmiştir. Ancak istatistiksel olarak ise uygulamalar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p < 0.05$).

Yapılan literatür taramasında krem peynirlerde US kullanılarak yağ miktarında meydana gelen değişimlerin incelendiği herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ancak süt ürünlerinde sonikasyon uygulamalarıyla yağ miktarlarındaki değişimlerin araştırıldığı araştırmalar mevcuttur. Süt bileşenleri ve sütte bozulmalara neden olan mikroorganizmalar üzerine US etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, Food Scan cihazının çalışma prensibine sahip olan Milkoscan (FOSS, Denmark) ile yapılan çalışma sonucunda yağ miktarları araştırılmış ve çiğ süt örneklerinde yağ miktarında 5 dk. uygulaması ile % 2,67 lik bir artış gözlemlenmiştir. Bu durumu yağ globüllerinin boyutunun küçülmesi ve yüzey alanlarının artmasına bağlamışlardır [39]. Yine US' un peynir üretimine ve sonrasında temel kimyasal özelliklere etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada alınan sonuçlara göre; önceden homojenize edilmiş sütlerde yağ içeriğinin yükselmediği, serbest yağ asitleri miktarında, kolesterol ve fosfolipid miktarlarında artışlar meydana geldiği ifade edilmiştir. Özellikle yağ globülleri yapısında yer alan kolesterol ve fosfolipid profilinin US ile ayrıldığı belirtilmektedir [18].

4.2.3. Protein Miktarları

Ultrasound uygulanmış olan krem peynir örneklerinin ortalama protein düzeyleri; 1, 3, 5 dk. uygulamalarıyla sırasıyla % 13,54, % 13,88, % 13,77 olarak elde edilmiştir. Kontrol numunesinde ise oran % 13,28 olmuştur. İstatistiksel olarak 3 ve 5 dk. uygulamaları ile kontrol grubu arasındaki farkın anlamlı olduğu ancak 3 ve 5 dk. uygulamalarının kendi aralarında farklılığın anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p < 0.05$). Çalışmamızda uygulanan süreye göre protein miktarlarında sırasıyla % 1,95, % 4,51, % 3,68 artış görülmüştür. Meydana gelen değişimler Şekil 4.10.'da görülmektedir.



Şekil 4.10. Farklı sürelerde ultrasound uygulanmış krem peynir örneklerinin protein miktarları

En iyi sonuç 3 dk. uygulaması ile elde edilmiş olup protein miktarında kontrole göre % 4,51'lik bir artış görülmüştür. Bu durum başarılı bulunmuştur. Diğer tüm uygulama sürelerinde de ciddi oranlarda artışlar gözlenmiştir. Tüm uygulamalarda meydana gelen artışlar iyi bir netice olarak değerlendirilmiştir. Yapılan literatür taramasında krem peynirlerin üretim aşamasında US kullanılarak protein miktarında meydana gelen değişimlerin incelendiği herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

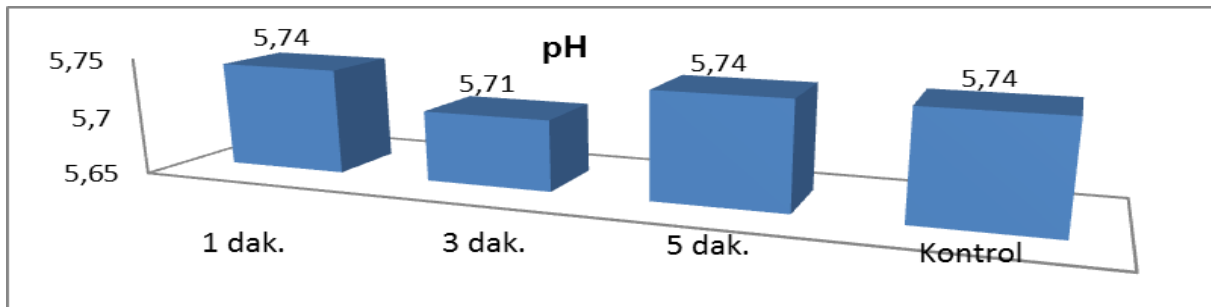
Süt ürünü olarak ise Jambrak ve ark. [17] serum proteini süspansiyonlarının özelliklerini belirlemek için 20, 40 ve 500 kHz'de 15 ve 30 dk. sonunda proteinlerin çözünabilirlik ve köpük oluşumu özelliklerini incelemişlerdir. Yüksek frekans bu özelliklerde değişim meydana getirmezken düşük frekanslarda ve 15 dk. uygulama ile aminoasitlerin hidrofilik kısımlarının suya doğru açılması ile proteinin yapısında ve konformasyonunda meydana gelen değişim ile çözünürlüğünde artış olduğunu bildirmişlerdir. Çözünürlüğün

artmasına yüksek iletkenlikteki yüklü grupların sayısının artması ile globüler proteinlerin tersiyer yapısındaki değişimlerin de etkili olabileceğini bildirmişlerdir. Böylece elektrostatik kuvvetlerin büyüyeceğini ve daha fazla suyun proteine bağlanacağını ve protein-su interaksyonunun artacağını bildirmişlerdir.

Cameron ve ark. [39] çiğ ve pastörize süt üzerine yaptıkları çalışmada toplam protein miktarının değişmediğini sadece protein yapılarının farklılaştığını belirtmişlerdir. Shanmugam ve ark. [40] yaptıkları çalışmada kazein misellerinin boyutunda iki güç seviyesinde (20 ve 41 W) küçük azalmalar meydana geldiğini belirlemişler ve yağ globüllerinde önemli azalmalar gözlenmiştir. Çalışmada serum proteinlerinin çözünen partikülleri arasında azalma görülmüş bu da serum proteinlerinin denatüre olması ile ilişkilendirilmiştir [40]. Denatüre olan/agregat oluşturan serum proteinlerinin κ -kazein ile interaksiyona girdiği ve misellerle agregat oluşturduğunu ve bu agregatların tiyol-disülfid değişim reaksiyonu ile oluştuğu bildirilmiştir [40].

4.2.4 pH Değerleri

Eritme peynir için istenilen kıvam, lezzet, raf ömründe ve tekstürde ürün elde edilebilmesi pH değerinin büyük bir önemi bulunmaktadır. TS 2176 peynir standardına göre krem peynirlerin pH değeri en az 5,5 olmalıdır.



Şekil 4.11. Farklı sürelerde ultrasound uygulanmış krem peynir örneklerinin pH değerleri

Çalışmamızda tüm ürünlerde US sonrası pH değerleri Şekil 4.11’de görüldüğü gibi olup sadece 3 dk. uygulamasında % 0,5 lik bir azalma gözlenmiştir. İstatiksel olarak uygulamalar arsında anlamlı bir fark bulunamamıştır. US uygulamasının pH üzerine herhangi bir etkisi olmamaktadır diye değerlendirilmiştir ($p < 0.05$).

Yapılan literatür taramasında peynirlerde US kullanılarak pH değerlerinde meydana gelen değişimlerin incelendiği herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ancak US'nin süt ve süt ürünlerinde pH üzerine olan etkileri araştırılmıştır. US'nin yağsız sütlerin fiziksel ve fonksiyonel özellikleri üzerine olan etkisinin araştırıldığı çalışmada 21 W ve 41 W güçlerinde 15, 30, 45 ve 60 dk. uygulamasında sütlerin pH larında kayda değer bir değişimin olmadığı bildirilmiştir [40]. Sulandırılmış süt konsantresinde güçlü US uygulamasının incelendiği çalışmada da, pH da bir değişim olmadığı bildirilmiştir [41]. Termosonikasyon (TS) uygulanan sütlerden üretilen esmer bir peynir türü olan Queso Fresco peynirlerinin pH larının incelendiği bir başka çalışmada ise, TS uygulamasında değişen sıcaklık ile birlikte hem azalma hemde artış gözlemlenmiştir [19]. Yine TS ile pastörize edilmiş sütlerde pH değerlerinde bir düşüş olduğu bunun da enzimatik aktivasyonun artmasından kaynaklanabileceği ifade edilmiştir [42].

4.2.5. Renk Değerleri

Üç boyutlu koordinat sistemiyle verilen L^* , a^* , b^* değerlerinden L^* değeri (parlaklık koyuluk hakkında bilgi vermekte olup bu değer 0 - 100 arasında değişmektedir. 0 siyah renge karşılık gelirken 100 değeri beyaz renge karşılık gelmektedir. $a^*(+)$ değerleri kırmızı renk yoğunluğunu belirtirken $a^*(-)$ değerleri yeşil renk yoğunluğunu ifade etmektedir. $b^*(+)$ sarı renk yoğunluğunu gösterirken $b^*(-)$ ise mavi renk yoğunluğunu ifade etmektedir [42]. L^* değeri peynirde beyazlığı ifade etmesi açısından oldukça önemli bir kalite parametresidir. [28].

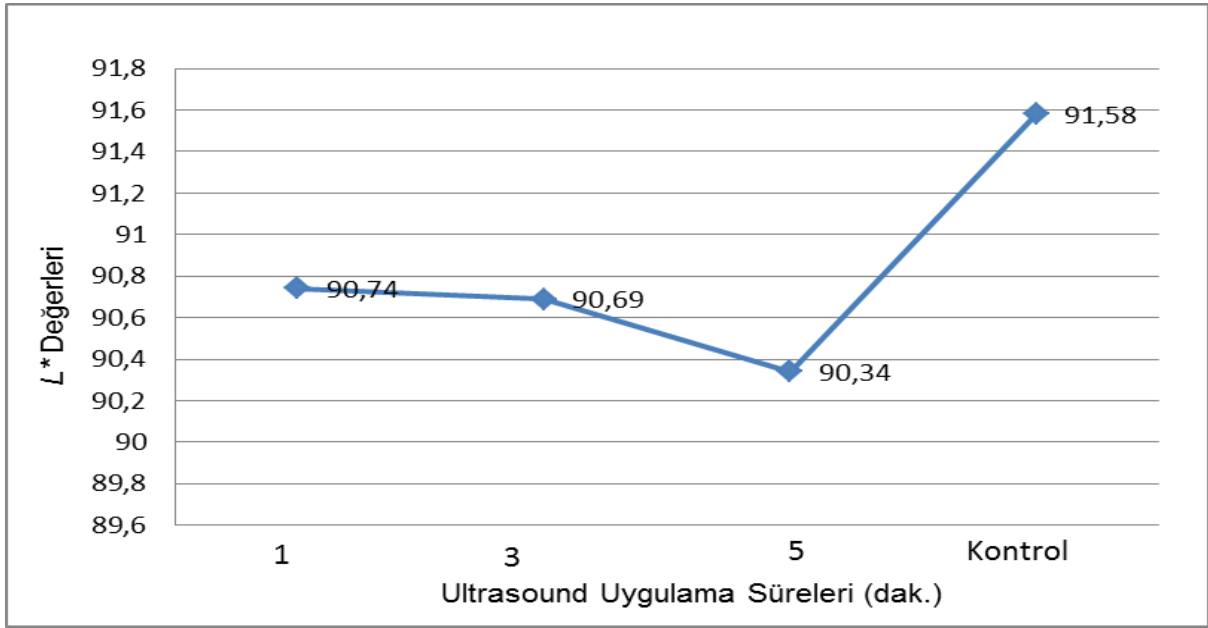
Tablo 4.6. Farklı güç ve sürelerde ultrasound uygulanmış numunelerin ve kontrolün renk parametrelerinin (L^*, a^*, b^*) kıyaslanması

Uygulamalar	L^*	a^*	b^*
Kontrol	91,58 ^a ±0,92	-3,03 ^a ±0,31	18,73 ^a ±0,61
1 dk.	90,74 ^{a,b} ±1,37	-2,03 ^b ±0,09	16,95 ^b ±0,83
3 dk.	90,69 ^{a,b} ±0,65	-2,75 ^a ±0,29	16,82 ^b ±0,50
5 dk.	90,34 ^b ±0,88	-2,79 ^a ±0,20	16,26 ^b ±0,31

Not: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farklılığı göstermektedir. (n=6, p<0,05)

4.2.5.1. L^* Değerleri

Sırasıyla 1, 3 ve 5 dk. ultrasound işlemi uygulanmış peynir numunelerinin her birinden 2 tekerrür ile 3'er okuma yapılmıştır. Kontrol numunesinde ort. L^* değeri 91,58 olmuştur ve örneklerle 1, 3, 5 dk. US uygulamaları ile ortalama L^* değerleri sırasıyla Şekil 4.12'de de görüldüğü gibi 90,74, 90,69, 90,34 olarak elde edilmiştir. Meydana gelen değişim oranları ise sırasıyla % 0,91, % 0,97, %1,35 olmuştur. İstatiksel olarak ise kontrol grubu ile 5 dk. uygulaması arasında fark vardır ($p<0.05$).



Şekil 4.12. Krem peynir örneklerinde ultrasound uygulama süresi ile L^* değerlerinde meydana gelen değişim

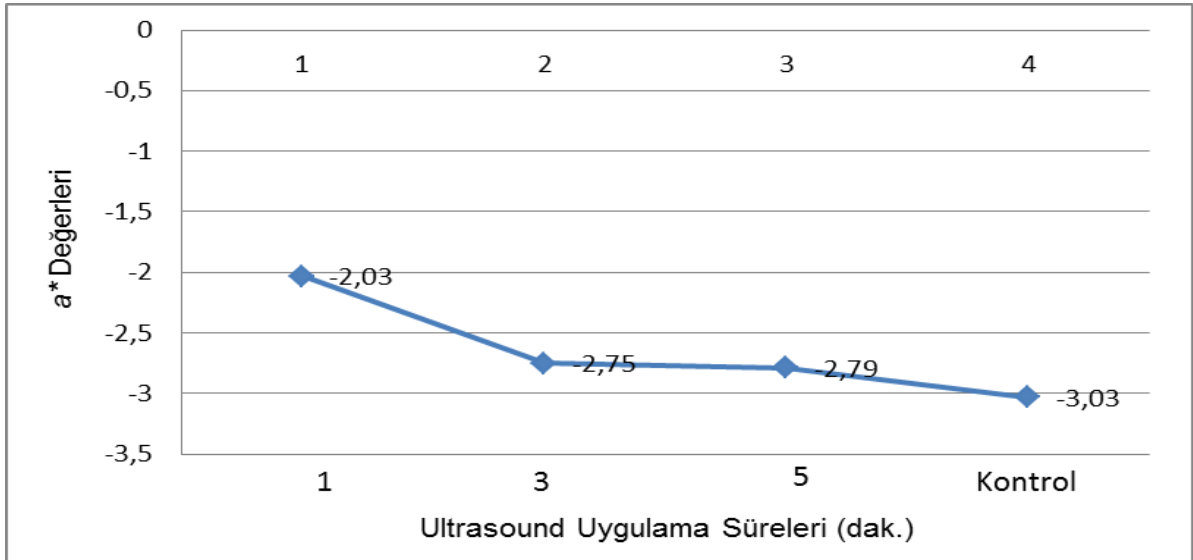
L^* değerinin 100'e yaklaşması rengin daha beyaz olduğunu ifade etmektedir. Yapılan çalışmada en az değişimin % 0,91 ile 1 dk. uygulaması ile elde edildiği görülmüştür. Yine çalışma verilerine göre artan süre ile birlikte L^* değerinin azaldığı görülmüş bu durum renkte bir koyulaşmanın meydana geldiğini göstermesi bakımından önemli bulunmuştur.

Yapılan literatür taramasında peynirlerde US kullanılarak L^* değerinde meydana gelen değişimlerin incelendiği herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Süt ürünü olarak peynir altı sularının US ve TS uygulamaları sonucunda duyu özelliklerinin incelendiği bir çalışmada ise renk özelliklerinde bir değişimin olmadığı belirtilmiştir [43]. Termosonikasyon uygulanan sütlerden elde edilen esmer peynirlerde L^* değerinin bizim sonuçlarımızın aksine arttığı görülmüştür [19]. Tam yağlı sütlerde TS uygulaması ile L^* değerlerinde ilk gün ve peynirlerin

raf ömrü boyunca depolanması süresinde bir artış görülmüştür. Bu durumu TS sırasında yağ globüllerinin yüzey alanının artmasına ve çözünebilir proteinlerin oluşmasına bunlarında opak karakterde olmalarına bağlamışlardır.

4.2.5.2. a^* Değerleri

CIE renk ölçüm sistemine göre a^* değeri eğer pozitif (+) ise kırmızılığın yoğunluğu ve eğer negatif (-) ise yeşil rengin yoğunluğu hakkında bilgi vermektedir. Koordinat sisteminde 0 noktası renksiz olarak kabul edilmekte buna göre bir renk yorumlaması yapılmaktadır [44]. Çalışmamızda, farklı sürelerde (1, 3, 5 dk.) uygulamalar sonucu elde edilen ortalama a^* değerleri Şekil 4.13.'de verilmiş olup sırasıyla -2,03, - 2,75, - 2,79 ve kontrol ölçüm değeri ise -3,03 olarak saptanmıştır. Meydana gelen değişimler sırasıyla % 33, % 9,2, % 7,9 olmuştur.



Şekil 4.13. Krem peynir örneklerinde ultrasound uygulama süresi ile a^* değerlerinde meydana gelen değişim

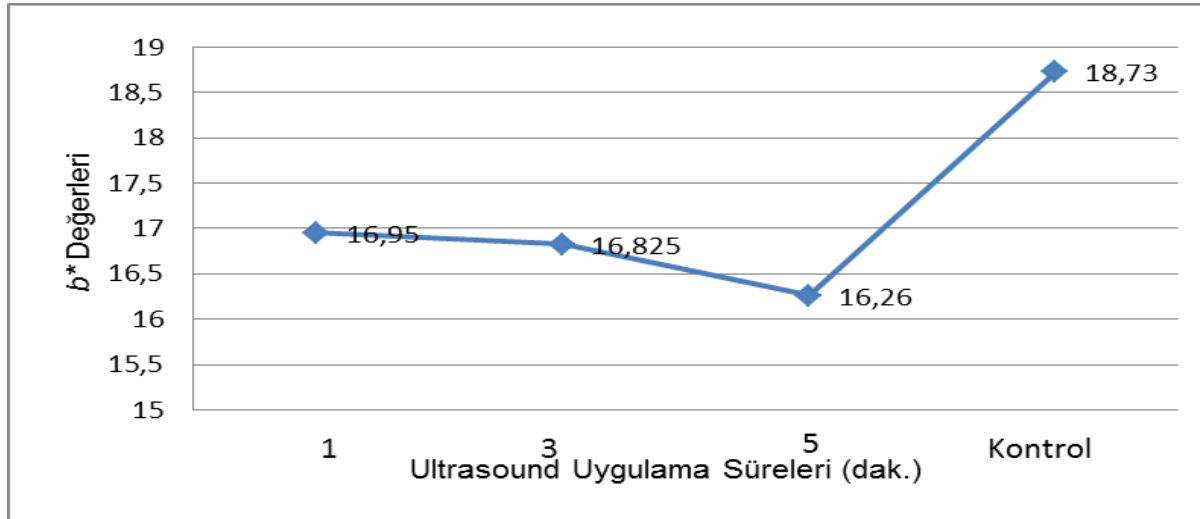
Çalışmamıza göre artan uygulama süresi ile birlikte a^* değerlerinde sırasıyla % 33, % 9,2, % 7,9 oranlarında artışlar görülmüş olup, en büyük fark 1 dk. uygulamasında gerçekleşmiştir. Böylece kırmızılıkta bir artışın olduğu görülmüştür. Bu durum renkte koyu renk algısını artırmıştır. İstatiksel olarak tüm uygulamalar kontrolden farklı, 3 ve 5 dk. uygulamalarının ise birbirleriyle benzer olduğu sonucuna varılmıştır ($p < 0.05$).

Yapılan literatür taramasında peynirlerin üretiminde US kullanılarak a^* değerinde meydana gelen değişimlerin incelendiği herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Süt ürünü olarak tam yağlı sütlerde TS uygulamasında a^* değerlerinde bir değişim görülmemiştir [42].

Yine esmer peynirlerin üretiminde kullanılan sütlerle yapılan TS ile üretilen peynirlerin raf ömrü süresince a^* değerlerindeki artışın olduğu gözlemlenmiştir [19].

4.2.5.3. b^* Değerleri

Koordinat düzleminde değişime göre ölçüm yapan ve merkezden uzaklaştıkça renk ayrımı artan CIE sisteminde b^* değerinin pozitif (+) olması sarılıkta yoğunluğun arttığı, bu değer negatif olması durumunda (-) ise mavi renk yoğunluğunun arttığı anlamı taşımaktadır [19]. Farklı sürelerde (1, 3, 5 dk.) uygulamalar sonucu elde edilen ortalama b^* değerleri sırasıyla 16,95, 16,82, 16,26 ve kontrol ölçüm değeri ise 18,73 olarak saptanmıştır ve Şekil 4.14.'de verilmiştir. Değişim oranları ise sırasıyla % 9,5, % 10,17, % 13,2 olarak gerçekleşmiştir.



Şekil 4.14. Krem peynir örneklerinde ultrasound uygulama süresi ile b^* değerlerinde meydana gelen değişim

Çalışmaya göre artan uygulama süresi ile birlikte b^* değerlerinde bir azalma, yani sarılıkta bir düşüşün olduğu görülmüştür. Kontrole göre en büyük düşüş 5 dk. uygulaması ile % 13,2 olarak gerçekleşmiştir. Bu sonuçlar peynirlerin renklerinin artan süre ile birlikte koyulaştığını göstermesi bakımından önem arz etmektedir. İstatistiksel olarak tüm uygulamalar kontrolden farklıdır ancak kendi aralarında anlamlı bir fark yoktur ($p < 0.05$). Yapılan literatür taramasında peynirlerin üretiminde US kullanılarak b^* değerinde meydana gelen değişimlerin incelendiği herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Esmer peynirlerin üretiminde kullanılan sütlere TS uygulaması ile b^* değerinde uygulamaların çoğunda bir değişim olmamış sadece bir uygulamada görülmüş bunun da depolama sırasında yüzeyde mikrobiyal gelişimden kaynaklanabileceği belirtilmiştir [19]. Yine tam yağlı sütler de US ile pastörizasyon ile tek değişmeyen parametrenin b^* değeri olduğu belirtilmiştir [42].

4.3. Krem Peynir Örneklerinin Mikrobiyolojik Özellikleri

Üretimi gerçekleştirilen eritme peynir örneklerinde ürün kalitesinde problemlere neden olabilecek ve yasalara uygunluğun araştırılması adına *E.coli*, toplam maya-küf, *Enterobacter*, toplam canlı ve koliform sayımları üretimi takriben gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar Tablo 4.7.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.7. Mikrobiyolojik analiz sonuçları

Uygulama	Enterobacter (kob/g)	Koliform (EMS/g)	E.coli (EMS/g)	Küf (kob/g)	Maya (kob/g)	Toplam Canlı (kob/g)
Kontrol	0	<0,30	<0,30	0	0	20
1 dk.	0	<0,30	<0,30	0	0	15
3 dk.	0	<0,30	<0,30	0	0	10
5 dk.	0	<0,30	<0,30	10	0	10

4.3.1. Toplam Koliform Grubu Bakteriler Ve *E.Coli*

Koliform sayısı, fekal koliform sayısı ve *E.coli* sayısı bir çok gıdada olduğu gibi süt ve mamullerinde de yapılırlar ve bir indikatör olarak kabul edilir. Koliformlar süt ve mamullerinde istenmez ve bulunması hijyenik olmayan koşullarda çalışmanın bir göstergesi olarak kabul edilir. Üründe bozulmalara yol açar. Örneğin peynirlerde gaz oluşumu sonucu şişme hataları meydana gelir. Laktozu; laktik asit, karbondioksit ve hidrojene fermente eden koliformlar, ayrıca süt proteinini parçalayarak istenmeyen kokulara, bozulmalara neden olurlar. Fekal koliform olan *E.coli* insanlarda da enfeksiyonlara neden olmaktadır [45].

TS 2176 eritme peyniri standardına göre eritme peynirinde en fazla 100 kob/g Toplam koliform grubu bakteriler (TKB) sayısına izin verilirken fekal koliform olan *E.coli* bakterisinin hiç bulunmaması gerekmektedir. TGK mikrobiyolojik kriterler tebliğine göre de eritme peynirinde bulunabilecek *E.coli* sayısı $<10^1$ kob/g olarak belirtilmiştir. 1, 3 ve 5 dk. ultrasound uygulaması akabinde yapılan ekim sonucu TKB, *E. coli* sayıları sırasıyla 0 kob/g, 0 kob/g, 0 kob/g olarak saptanmıştır. Kontrol örneğinde de herhangi bir gelişme gözlenmemiştir. Bu nedenle yapılan US uygulamasının TKB üzerine etkisi hakkında bir sonuç elde edilememiştir. Bu durum bize üretimde kullanılan hammadde girdisinin kalitesinin yüksek olduğunu ve işletme hijyen koşullarının üst düzeyde olduğunu göstermektedir. Yapılan literatür taramasında peynir üretiminde US kullanılarak TKB sayısında meydana gelen değişimlerin incelendiği herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Jelcic ve ark. [43] peynir altı suyuna US ve TS uygulamalarının mikrobiyolojik etkilerini araştırmışlar (240W, 320W, 400W - 5, 6, 5, 8 dk.) ve US uygulamasının tek başına etkili olmadığı ön ıstma sonrası (45-550°C) sonrası etkinliğin (TS) olduğunu belirtmişlerdir.

Tam yağlı sütlerin 24 kHz 400 W 30 dk. 63°C de US ile pastörize edildiği bir başka çalışmada, mezofilik bakteri sayısının geleneksel pastörizasyona göre 4°C de 16 günlük depolama sonunda daha düşük olduğu belirtilmiş [42] bunun da US nin hücrelerde bir kuruma meydana getirmesine ve ortamda su moleküllerinin kırılmasıyla H⁺ ve OH⁻ ve diğer serbest radikallerin hücreler üzerinde baskılayıcı etki oluşturmaya bağlamışlardır [42]. Esmer peynirlerin üretiminde kullanılan sütlere TS uygulaması (63°C, 10-30 dk., 120 µm) ile konvansiyonel pastörizasyonun (72°C 15 Sn.) mikrobiyal gelişmeye olan etkilerinin incelendiği çalışmada geleneksel yöntemin raf ömrü sürecinde gelişim bakımından daha güvenli olduğunu ancak 30 dk. TS uygulamasında buna yakın değerler ortaya koyduğunu belirtmişlerdir. Yani TS uygulamasında süre arttıkça etkinliğin arttığı ifade edilmektedir [19].

4.3.2. Toplam Maya-Küf

Peynirlerde bulunan ve genellikle bulunması arzu edilmeyen mikroorganizma gruplarından biride mayalardır. Sadece kefir, kıymaz gibi belli başlı birkaç süt mamulünde arzu edilen tat, aroma için ve bazı özel peynir çeşitlerinde son aromayı oluşturmaya nedeniyle istenebilirler. Mayalar asit ortamda gelişebildikleri için süt mamullerinin bozulmasında önemli rol oynarlar. Küfler ise genellikle süt mamullerinin tadını bozarlar. Özellikle meydana getirdikleri lipaz enziminin katalitik etkisiyle yağları ve proteolitik enzimlerin etkisiyle proteinleri parçalayarak pis kokulu kötü lezzetin oluşmasına neden olurlar. Küfler açısından

bir diğerk önemli husus ise metabolizma faaliyetleri sonucu insan ve hayvanların sağılığını bozan ve sekonder metabolitler olan CPA, aflatoksin gibi mikotoksinler oluşturmalarıdır.

Çalışmamızda, ultrasound uygulaması sonucu ekimleri yapılmış olan örneklerde tespit edilen gelişmeler incelendiğinde sadece 5 dk. uygulamasında 10 kob/g düzeyinde bir gelişme görülmüş diğerk uygulamalarda ise herhangi bir gelişmeye rastlanılmamıştır. Bu durum uygulama sırasında meydana gelen bir bulaşının olduğunu göstermektedir, çünkü kontrol örneğinde herhangi bir gelişmeye rastlanılmamıştır. Küflerin genelde işletme çevresinden ve işleme alet ekipmanlarından bulaştığı göz önüne alındığında üretim koşullarının durumunun oldukça iyi olduğu görülmektedir. Yapılan literatür taramasında peynir üretiminde US kullanılarak toplam maya ve küf sayılarında meydana gelen değişimlerin incelendiğı herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Peyniraltı sularında US ve TS etkilerinin incelendiğı çalışmada US'nin tek başına etkili olmadığını sıcaklık artışına paralel olarak etkinliğin arttığını belirtmişlerdir [43].

4.3.3. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayısı

Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı (TMAB) bakteri sayımı süt ürünlerinde mikrobiyolojik kalitenin belirlenmesinde önemli bir yere sahiptir. Üretim ve işletme sanitasyonunu yeterliğı hakkında fikir sahibi olunması ve ürünün raf ömrünün belirlenmesi adına önemli bir parametredir. Krem peynirlerin raf aşamasında dolap sıcaklığından belli bir süre ayrı kalabileceğı göz önüne alınarak toplam canlıda TMAB tercih edilmektedir. Üretim sonunda yapılan ekimlerimizin ortalama sonuçları sırasıyla 15 kob/g, 10 kob/g, 10 kob/g olarak gerçekleşmiştir. Kontrol numunesinde ise ortalama 20 kob/g düzeyinde bir gelişme olmuştur. 3 dk. Uygulaması ile % 50 oranında bir inhibisyon olmuştur. Bu durum son derece başarılı olarak değerlendirilmiştir. 5 dk. uygulaması ile de yine % 50 oranında bir inhibisyon sağlanmasında iyi bir netice olarak değerlendirilmiştir. Yapılan literatür taramasında peynir üretiminde US kullanılarak TMAB sayısında meydana gelen değişimlerin incelendiğı herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Bermudez ve ark. [42] sütlerde son ürün kalitesi için önemli olan ve ürünün raf ömrünü etkileyen mezofilik bakteri sayısında meydana gelen değişimleri incelediklerinde, uygulamanın etkin olduğunu ve düşük amplitüd değerlerinde (% 30-60) etkinliğin daha da iyi olduğunu belirtmişlerdir. Queso fresco peynirlerinde mezofilik bakteri sayısının yüksek olması bu peynirlerin raf ömrünü 1-2 hafta ile sınırlamaktadır. Ancak peynir üretiminde

kullanılan sütlere TS uygulaması ile bakterilerin tahrip edilmesiyle raf ömrü 23 günden fazla olmuştur [19]. Yine Jelc ve ark. [43] toplam canlı sayısının TS ile azaldığını belirtmişlerdir.

4.3.4. *Enterobacter*

Esasen bitkisel orjinli olan insan ve hayvan dşklarında da bulunabilen koliform grubu bakterilerdendir. Süt ve peynirler içinde *E.coli* den daha fazla gaz ürettiğinden, bu ürünler için oldukça tehlikelidir [45].

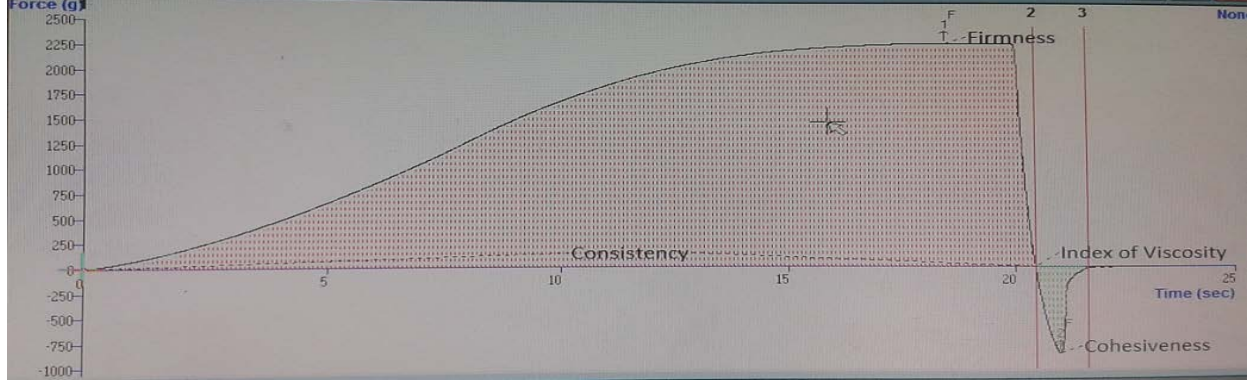
Çalışmamızda, yapılan ekimler sonucu tüm uygulama gruplarında herhangi bir gelişmeye rastlanılmamıştır. Kontrol rneğinde de herhangi bir gelişme gözlenmemiştir. Bu nedenle yapılan US uygulamasının *Enterobacter* zerine etkisi hakkında bir sonuç elde edilememiştir. Bu durum bize üretimde kullanılan hammadde girdisi kalitesinin yüksek olduğunu ve işletme hijyen koşullarının üst düzeyde olduğunu göstermektedir. Yapılan literatür taramasında krem peynir retiminde US kullanılarak *Enterobacter* sayısında meydana gelen değşimlerin incelendiğ herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Yüksek ve düşük frekanslı US uygulamalarının yağsız sütte bulunan *Enterobacter* inaktivasyonuna etkilerinin araştırıldığı çalışmada düşük fekanslı US (20 kHz, 8 W, 10, 20, 30, 40, 50, 60 dk.) uygulamasının artan süreyle birlikte bakteriyosidal etkinliğinin arttığını ortaya koymuştur. Yüksek frekans uygulamasının ise etkisiz olduğunu ancak bunun sudaki uygulamasının bakteriyosidal olduğunu bildirmişlerdir. Su ile süt arasındaki farkı sütün iyi tamponlayıcı olduğuna bağlamışlardır [46]. Queso fresco peynirlerinde *Enterobacter* bakteri sayısı TS uygulayyla diğr mikroorganizmalarda olduğ gibi sayısı azalmış ve gelişimleri ilk 10 gün için yavaşlamış ancak 10 günden sonraki sürede gelişimleri hızlanmıştır [19].

4.4. Sürülebilir Krem Peynirlerin Tekstür Parametreleri

Peynirlerin önemli kalite unsurlarından biride tekstrdr [28]. El, dil, dişler ve damak yardımı ve dokunma duyusu ile karar verilebilen yumuşaklık-sertlik, sağlamlık, zllk, çiğnenebilirlik, kumluluk, unluluk ve yapışkanlık gibi faktörlerden oluşmaktadır [44]. Tekstürel karakterler; mekanik özellikler, geometrik özellikler ve bunlarla ilişkili olarak yağ ve su içerikleri (diğr özellikleri) olmak üzere e ayrılır. Mekanik Karakterler; gıdanın şekil değişikliğ (deformasyon) ile ilgili özellikleridir. Bunlardan ilki sertlik; gıdaları deforme etmek için gerekli olan kuvvettir yani probun ürüne nüfuz ederken ihtiyaı olan maksimum kuvvettir. Bu noktadan sonra prob eski pozisyonunu almak üzere geri dönüş yapmaktadır. Bu

değer yüksek olursa ürünün sertliği o kadar fazla olmaktadır [47]. Yapışkanlık besin yüzeyi ile besinlerin ilişkide olduğu dil, diş, damak gibi yüzeylerin arasındaki çekim kuvvetlerine karşı koymak için gerekli olan kuvvettir. Ölçüm sonuçları da Tablo 4.8.'de gösterilmiştir.



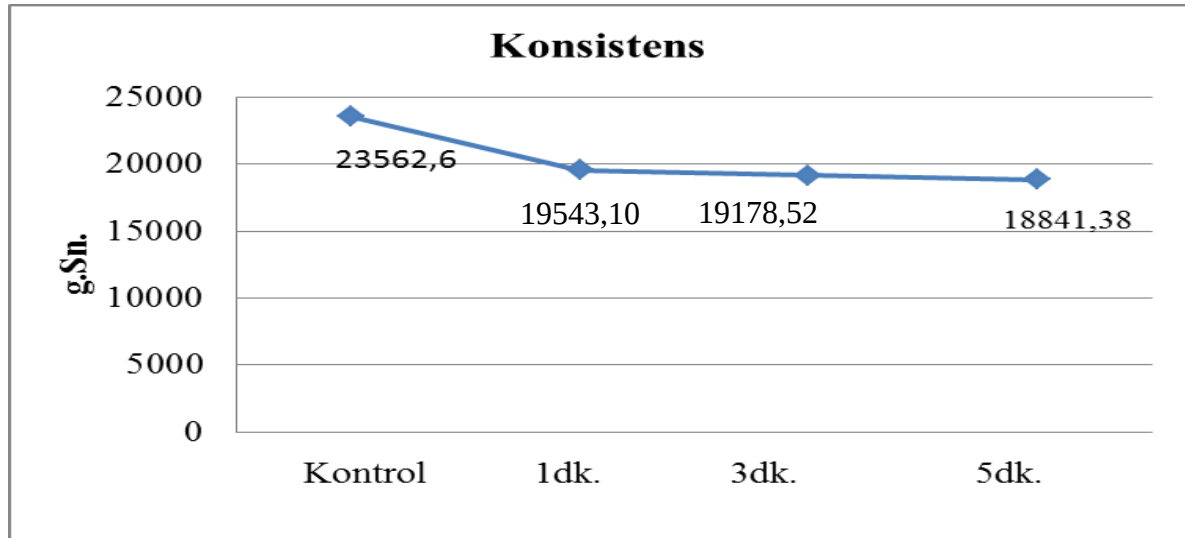
(Foto:Bölük, İ., 2015)

Şekil 4.15. US uygulanmış krem peynirlerin testürel parametrelerinin incelenmesi oluşan pik
(Exponent Lite Express, TA-XTPlus)

Tablo 4.8. Tekstür parametreleri sonuçları

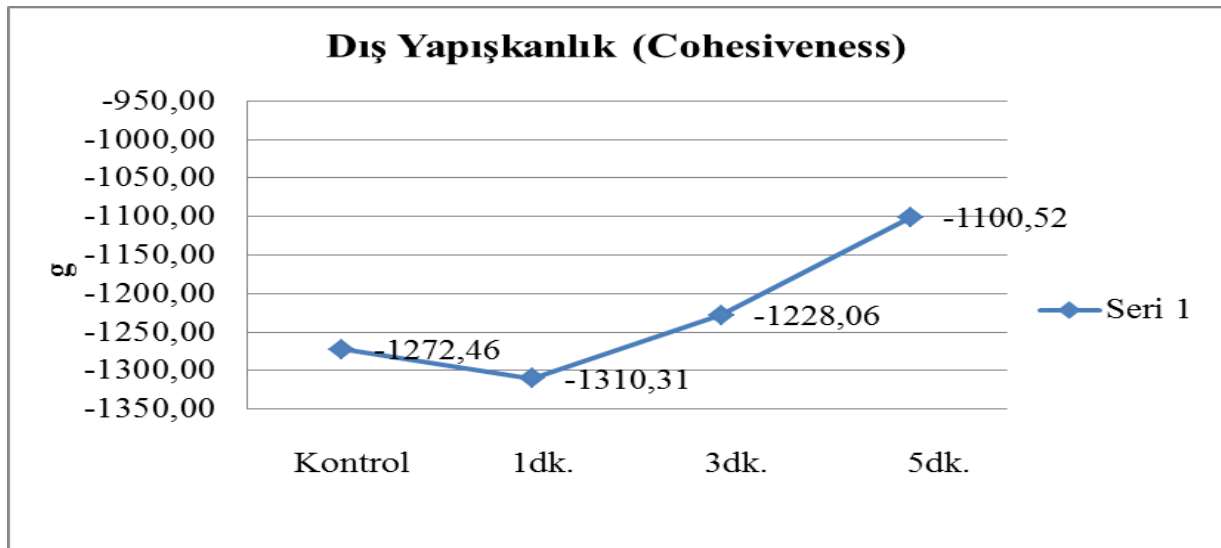
Uygulama	Sertlik	Konsistens (Consistency)	Dış Yapışkanlık (Cohesiveness)
	(g)	(g.Sn.)	(g)
Kontrol	1857,31 ± 112,0 ^a	23562,60 ± 2775,7 ^a	-1272,46 ± 104,4 ^a
1 dk.	1456,31 ± 162,3 ^a	19543,10 ± 2531,3 ^a	-1310,31 ± 186,8 ^{a,b}
3 dk.	1519,28 ± 146,6 ^a	19178,52 ± 2381,0 ^a	-1228,06 ± 93,4 ^b
5 dk.	1524,23 ± 99,6 ^b	18841,38 ± 2258,4 ^b	-1100,52 ± 56,5 ^a

Not: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farklılığı göstermektedir. (n=6, p<0,05)



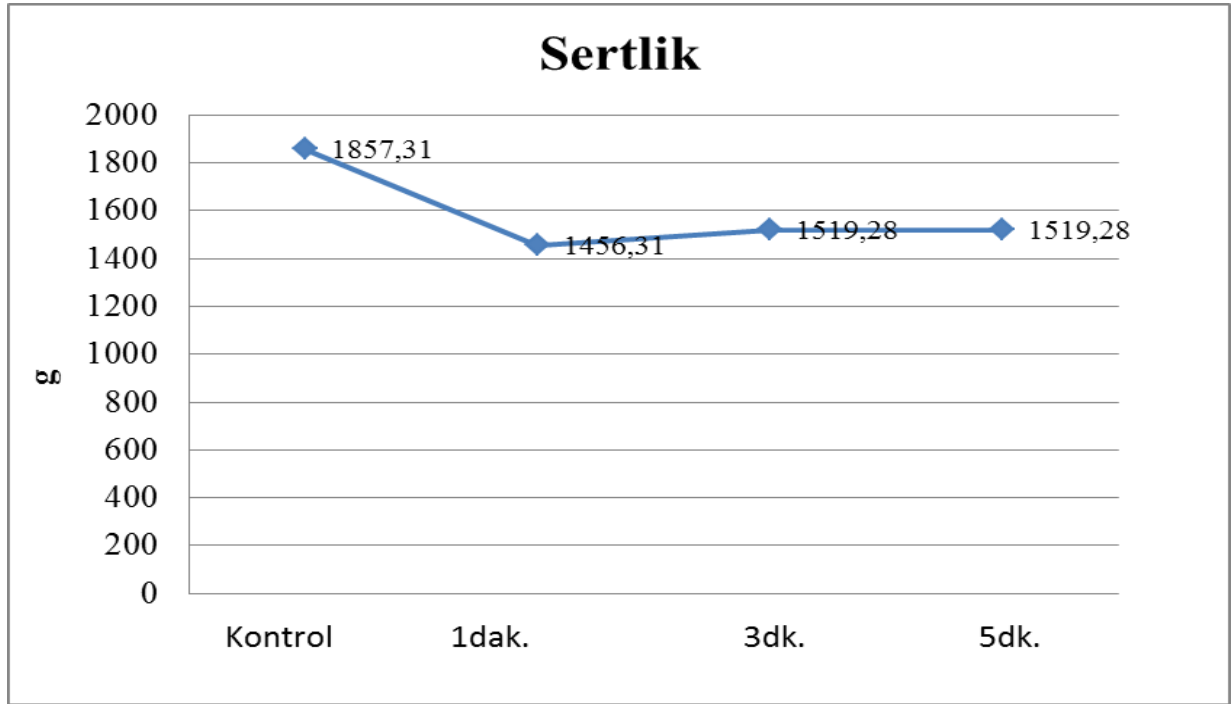
Şekil 4.16. Uygulama sürelerine göre konsistenste görülen değişimler

Konsistens (İç Yapışkanlık); bir maddenin viskozite, yüzey gerilimi ve benzeri tüm özelliklerinin topluca tanımıdır yani gıdanın hem görünümü hem de kinestetikliği ile ilgilidir. Şekil 4.15.'de elde edilen kurveye göre sertlik noktasına kadar olan alanın değeri konsistensi vermektedir. Bu değer ne kadar büyük olursa konsistenste o kadar büyük olacaktır [47]. İç yapışkanlık; peynirin iç bağlarının kuvveti olarak tanımlanabilir [48]. Konsistens özellikleri için sonuçlar istatistiksel olarak incelendiğinde ise sadece 5dk. uygulamasının farklı olduğu görülmüştür ($p < 0.05$). Artan süre ile yapının gevşediği ortaya çıkmıştır. Meydana değişimler Şekil 4.18.'de görülmektedir.



Şekil 4.17. Uygulama sürelerine göre yapışkanlıkta görülen değişimler

Dış yapışkanlık (cohesiveness) değeri probun geri dönüşü sırasında ihtiyaç duyulan maksimum negatif kuvvet ile ölçümlenmektedir. Bu değer ne kadar sıfırın altında ne kadar büyük olursa yapışkanlık o kadar büyük olacaktır. Şekil 4.16.'da 1, 3, 5 dk. ultrasound uygulamaları ile meydana gelen değişimlere istatistiksel olarak bakıldığında sadece 3 dk. uygulamasının kontrolden farklı olduğu görülmüştür ($p<0.05$). 3 dk. uygulaması ile yapışkanlıkta anlamlı bir artış görülmüştür. Ürünümüz sürülebilir bir karakterde olduğundan bu artış olumlu olmuştur.



Şekil 4.18. Uygulama sürelerine göre sertlikte görülen değişimler

Çalışmamız sonucunda, 1, 3, 5 dk. ultrasound uygulamaları ile sertlik için elde edilen veriler istatistiksel olarak incelendiğinde sadece 5 dk. uygulamasının kontrolden anlamlı bir farklılığının olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). 5 dk. uygulaması ile yapıda bir yumuşamanın ortaya çıktığı Şekil 4.17.'de görülmektedir. Sürülebilirlik özelliğine olumlu katkı sağlayacağından için artış olumlu kabul edilmiştir.

US uygulaması ile krem peynirlerin tekstürünün direkt incelendiği bir çalışmaya ise rastlanılmamıştır. Queso fresco peynirlerinin üretiminde kullanılan sütlere TS uygulamasının etkileri araştırılmış olduğu bir çalışmada, uygulama sonucunda sıklık azaldığı, çiğnenebilirlik kolaylaştığı, yapışkanlık azaldığı ve peynirin yumuşaklığı ve koparılabirliği artmış olduğu

belirlenmiştir. Monotermosonikasyon (MTS) işlemine tabi tutulmuş süttten yapılan yoğurtların MTS uygulanmamış olanlara göre tekstürel değışimleri; sıklık artmış, yapışkanlık artmış, çignenebilirlik ve iç yapışkanlıktada artışlar görölmüşür. MTS uygulanmış yoğurtlarda ilk sıkıştırmadan sonra yapıdaki bozulma kontrole göre daha az gerçekteşmiştir [49].

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Krem peynirlerde katkı maddesi kullanılmaksızın raf ömrünü artırma çalışmalarına öncüllük teşkil etmesi bakımından yenilikçi (inovatif) ultrasound teknolojisinin peynirlerin homojenizasyon aşamasında kullanıldığı çalışmamızda, üç farklı süre uygulaması ile krem peynirleri fizikokimyasal özellikleri ve olası siklopiazonik asit düzeyleri irdelenmiştir.

Yapılan çalışmalarda, ülkemizde kalite standartlarını üst düzeyde kullanan bir işletmede ürettiğimiz krem peynirlerde ilk kez siklopiazonik asit (CPA) düzeyleri enstrümental olarak LC-MS ile belirlenmiş olup, ort. 5 µg/kg düzeyinde CPA varlığı ortaya konulmuştur. Üretilen peynirlerde kontrollü şartlarda (20 kHz, 100-120W, 100 amplitude) US prosesi etkisiyle değişimler incelenmiş olup, söz konusu proses etkisi sonrası, tayin edilmiş düzey olan 5 µg/kg lık sekonder metabolit siklopiazonik asidin (CPA) tamamem inhibe edildiği belirlenmiştir ancak üretim prosesi gereği farklı kalitelerde hammadde girdisi içeren ticari krem peynir üreten işletmelerde farklı sonuçlar da alınabileceği düşünülmektedir. Bu noktada ultrasound uygulamasının söz konusu mikotoksini inhibe etme kapasitesinin araştırılması amacıyla CPA katma (spiking) metodolojisi, laboratuvar skalada uygulanarak US teknolojisinin yeteneği irdelenmiştir. US uygulaması sonrası 2, 5, 7, 10, 20 ve 100 µg/kg CPA katma uygulamalarında, düzeylerinde sırasıyla ortalama % 100, % 100, % 93, % 64, % 23 ve % 1’lik azalmalar tespitlenmiştir. Yapılan çalışmalar neticesinde 2 µg/kg ve 5 µg/kg düzeylerinde CPA katılmış örneklerde 1 ve 3 dk. uygulamaları ile % 100 inhibisyon sağlanması ve 7 µg/kg uygulaması ile % 93’lerde inhibisyon sağlanması son derece başarılı olarak değerlendirilmektedir.

Yapılan çalışmalar neticesinde, US uygulamasıyla krem peynirlerin kuru madde içeriğinde % 20,42’lik artışlar belirlenmiştir. 1, 3, ve 5 dk. uygulamalarında artan US uygulama süresi ile kuru maddedeki yağ oranlarında azalma gözlenmiştir. Belirlenmiş US şartlarımızda, krem peynir örneklerinin protein düzeylerinde; 1, 3, 5 dk. uygulamalarıyla sırasıyla % 1,95, % 4,57, % 3,68 artışlar görülmüştür, en iyi sonuç 3 dk. uygulaması ile elde edilmiştir (p<0.05). Çalışmamız krem peynirlerinin kuru madde, yağ ve protein değerlerinin US uygulamaları etkisiyle değişiminin belirlendiği ilk çalışma niteliğindedir, benzer bir çalışmaya rastlanılamamıştır. US sonrası pH değerlerinde 3 dk. uygulamasında % 0,5’lik bir azalma gözlenmiş olup, uygulamalarda anlamlı bir değişiklik belirlenmemiştir (p<0.05). Krem peynirlerde yapılan mikrobiyolojik kalite analizlerinde; toplam maya-küf sayısı (TMK),

toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB), koliform, ve *Enterobacter* düzeyleri incelenmiş olup, US etkisi sonrası TMK ve TMAB’de gelişim olmadığı saptanmıştır.

US uygulanan peynirlerin tekstürü incelendiğinde konsistenste azalmanın, yapıda bir yumuşamanın, viskozitede artışın olduğu görülmüştür ($p<0.05$). Önemli bir kalite parametresi olan renk incelemesi yapıldığında ise artan süre ile birlikte hafif bir esmerleşmenin olduğu görülmüştür ve en iyi $L^*a^*b^*$ renk skalası değerlerinin 3 dk. uygulaması ile olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Yapılan tüm çalışmalar neticesinde krem peynir kalitesinin ve olası mikotoksin CPA’nın düzeyinin izlenmesinde US teknolojisinin yenilikçi (inovatif) teknoloji olarak kullanılabileceği ortaya konulmuş ve bu konudaki eksikliğimiz giderilmiştir, bu konudaki ziyade çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir ve öncül çalışmadır.

KAYNAKLAR

1. Tokuşoğlu, Ö. Ultrasound Processing in Foods: Fundamentals, Applications and Advances in Commercialization. In *Advances in Commercialization of Nonthermal Processing. Short Course-IFT Preannual Meeting. Haziran 12-13, 2013, Hilton-Chicago, Institute of Food Technologists Publishing, Chicago, Illinois, USA (In IFT2013 Preannual Meeting Book).*
2. Rastogi, N. Opportunities and challenges in application of ultrasound in food processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 2011, 51, 705–722.
3. Guinee, T. *Cheese Problems Solved.* Ed: McSweeney, CRC Press, Boca Raton, 2007, 365-368 s.
4. Hazer, A. Denizli ve Aydın İllerinden Elde Edilen Çiğ Sütlerde Aflatoxin M1 Prevalansı ve Miktarının Aranması. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni Anabilimdalı, Aydın, 2011, 57s. (Yüksek Lisans Tezi).
5. Somuncuoğlu, Ş. Kuru İncirlerde Siklopiazonik Asit Varlığının Ve Miktarının Belirlenmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İstanbul, 2007, 70. (Yüksek Lisans Tezi).
6. Albay, Z., Şimşek, B. Süt ürünlerinde mikotoksinler ve özellikleri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi.* 2011, 2, 50-60.
7. Boppha, P. C. Fate Of The Neurotoxic Mycotoxin, Cyclopiazonic Acid İn Dairy Products. University of Western Sydney, Faculty of Science and Technology, Hawkesbury, 1998, 219 s. (Doktora Tezi).
8. Zambonin, C., Monaci, L., Aresta, A. Determination of cyclopiazonic acid in cheese samples using solid-phase microextraction and high performance liquid chromatography. *Food Chemistry.* 2001, 75, 249-254.
9. Demirdöven, A., Baysal, T. Gıda Mühendisliğinde Isıl Olmayan Teknolojiler. Ed: Taner Baysal, Filiz İçerir, Nobel Akademik Yayıncılık, Ankara, 2012, 197-219 s.
10. Salazar, J., Chavez, J. A., Turo, A., Garcia-Hernandez, M. J. Effect of ultrasound on food processing: in *Novel Food Processing, Effects on Rheological and Functional Properties.* Ed: Ahmed, J., Ramaswamy, H. S., Kasapis, S., Boye, J. I., CRC Press, New York , 2010, 65-84 s.
11. Türkmen, F. Yüksek Güçlü Ultrasound İşleminin Sütün Fizikokimyasal Ve Jelleşme Özelliklerine Etkisi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İstanbul, 2012, 75 s. (Yüksek Lisans Tezi).
12. Demirdöven A., Baysal T., The use of ultrasound and combined technologies in food preservation. *Food Reviews International.* 2009, 25, 1-11.
13. Torley, P, Bahandri, B. Effect of high power ultrasound and ageing on the physical properties of bovine Semitendinosus and Longissimus muscles. *Meat Science.* 2007, 75, 628-639.
14. Acar, J. Gıda endüstrisinde ultrasound kullanımı. Hacettepe Üniversitesi. 2012, 66.

15. Chouliara, E., Georgogianni, K. G., Kanellopoulou, N., Kontominas, M. G. Effect of ultrasonication on microbiological, chemical and sensory properties of raw, thermized and pasteurized milk. *International Dairy Journal*, 2010, 20, 307–313.
16. Kurt, Ç., Yüksek Güçlü Ultrasound İşleminin Fermente Süt İçeceğinin Fiziksel Özelliklerine Etkisi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İstanbul, 2013, 143 s. (Yüksek Lisans Tezi).
17. Jambrak, A. R., Mason, T. J., Lelas, V., Krešić, G. Ultrasonic effect on physicochemical and functional properties of α -lactalbumin. *Food Science and Technology*. 2010, 43, 254-262.
18. Marchesini, G., Balzan, S., Montemurro, F. Effect of ultrasound alone or ultrasound coupled with CO₂ on the chemical composition, cheese-making properties and sensory traits of raw milk. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2012, 16, 391-397.
19. Bermudez, D., Canovas, G. Processing of soft hispanic cheese (“quesofresco”) using thermo-sonicated milk: A study of physicochemical characteristics and storage life. *Journal of Food Science*. 2010, 75, 548-558s.
20. Özmenteşe, N. İstanbul Piyasasından Sağlanan Süt ve Süt Ürünlerinin Aflatoksin B1 Ve M1 İçerikleri Yönünden Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi Yöntemi İle Araştırılması. Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Anabilim Dalı, İstanbul, 2002, 75 s. (Yüksek Lisans Tezi).
21. Burdock G. A., Flamm, W.G. Review article: Safety assessment of the mycotoxin cyclopiazonic acid. *International Journal of Toxicology*. 2000, 19, 195-218.
22. Motta, S., Soares, L. Simultaneous determination of tenuazonic and cyclopiazonic acids in tomato products. *Food Chemistry*. 2000, 71, 111-116.
23. Bamba, R., Sumbali, G. Co-occurrence of aflatoxin B1 and cyclopiazonic acid in sour lime (*Citrus aurantifolia* Swingle) during post-harvest pathogenesis by *Aspergillus flavus*. *Mycopathologia*. 2005, 159, 407-411.
24. Hayashi, Y., Yoshizawa, T. Analysis of cyclopiazonic acid in corn and rice by a newly developed method. *Food Chemistry*. 2005, 93, 215-221.
25. Tekinşen, C. Süt ve Süt Ürünleri: Temel Bilgiler, Teknoloji, Kalite Kontrolü. Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya, 2005, 145-229 s.
26. Turhan, S. Yağsız Sütten İşlenmiş Taze Peynirler İle Kaşar Peyniri Karışımından Eritme Peyniri Üretimi Ve Üretilen Peynirlerin Bazı Kalite Kriterleri Üzerinde Bir Araştırma. Ondokuz mayıs üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Samsun, 1993, 85 s. (Yüksek Lisans Tezi).
27. Guinee, T. P., Caric, M., Kalab, M. Pasteurized processed cheese and substitute/imitation cheese products, cheese : Chemistry, physics and microbiology, major cheese groups . Elsevier Applied Science. 2004, 349-394.
28. Solak, B. Farklı Tip Peynirler Kullanılarak Üretilen Eritme Peynirlerin Üretimi Esnasında Uygulanan İşlem Parametrelerinin Peynirin Bazı Özellikleri Üzerine Etkisi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Konya, 2013, 324 s. (Doktora Tezi).

29. Üçüncü, M. Süt ve Mamulleri Teknolojisi. Ege. Üni. Müh. Fak. Yay., İzmir, 1992, 280 s.
30. Tamime, A. Y. Processed Cheese and Analogues An Overview. Blackwell publishing, New Jersey, 2011, 1-24 s.
31. Şimşek, O., Kavas, M. Eritme Peyniri Yapım Teknolojisi. Trakya Üniv. Tekirdağ Zir. Fak. Yay. No:125, Tekirdağ, 1991, 254-261 s.
32. Hui, Y.H., Dairy Science and Technology Handbook 2 Product Manufacturing. VCH Publisher Inc, New York, 1993, 229-235 s.
33. Phadungath, C. Cream cheese products: A review. Songklanakarin J. Sci. Technol. 2005, 27, 191-199.
34. Tokuşoğlu, Ö., Alpas, H., Bozoğlu, F. High hydrostatic pressure effects on mold flora, citrinin mycotoxin, hydroxytyrosol, oleuropein phenolics and antioxidant activity of black table olives. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2010, 11, 250-258.
35. Liu, z., Juliano, P., Williams, R. Ultrasound improves the renneting properties of milk. Ultrasonics Sonochemistry. 2014, 21, 2131-2137.
36. Angel, A., Tone, N., Gunnar, S. Determination of cyclopiazonic acid in food and feeds by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A. 2009, 1216, 3812-3818.
37. Tokuşoğlu, Ö., Bölük, İ., Güler, A. Ülkemizde sıklıkla tüketilen bazı gıda ve içeceklerin muhafazasında inovatif yöntem olarak ultrases (ultrasound) teknolojisinin kullanımı: biyoaktif fenolik antioksidanlar, biyoaktif lipidlerin, fizyokimyasal, mikrobiyal, enzimatik kalite ve raf ömrü üzerine etkilerin izlenmesi. Kesin Rapor. Celal Bayar Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projesi (BAP). Proje No: 2014-008, 2015, 93 s.
38. Finoli, C., Vecchio, A., Galli, A., Franzetti, L. Production of cyclopiazonic acid by molds isolated from Taleggio cheese. Journal of Food Protection. 1999, 10, 1103-1227.
39. Cameron, M., McMaster, L., Britz, T. Impact of ultrasound on dairy spoilage microbes and milk components. Dairy Science Technology. 2009, 89, 83-98.
40. Shanmugam, A., Chandrapala, J., Ashokkumar, M. The effect of ultrasound on the physical and functional properties of skim milk. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2012, 16, 251-258.
41. Yanjung, S., Jianhang, C., Shuwen, Z., Hongjuan, L. Effect of power ultrasound pre-treatment on the physical and functional properties of reconstituted milk protein concentrate. Journal of Food Engineering. 2014, 124, 11-18.
42. Bermudez, D., Mawson, R., Versteeg, K., Canovas, G. Composition properties, physicochemical characteristics and shelf life of whole milk after thermal and thermo-sonication treatments. Journal of Food Quality. 2009, 32, 283-302.
43. Jelacic, I., Bozanic, R., Brncic, M., Tripalo, B. Influence and comparison of thermal, ultrasonic and thermo-sonic treatments on microbiological quality and sensory properties of rennet cheese whey. Mlijekarstvo. 2012, 62, 165-178.

44. Saldamlı, İ., Saldamlı, E. Gıda Endüstrisi Makineleri. Savaş Yayınevi, Ankara, 2004, 530 s.
45. Metin, M. Süt Teknolojisi. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 2005, 460 s.
46. Gao, S., Hemar, Y., Lewis, G., Ashokkumar, M. Inactivation of *Enterobacter aerogenes* in reconstituted skim milk by high- and low-frequency ultrasound. Ultrasonics Sonochemistry. 2014, 21, 2099-2106.
47. Liu, H., Xu, X.M., Guo, Sh. D. Rheological, texture and sensory properties of low-fat mayonnaise with different fat mimetics. Swiss Society of Food Science and Technology (LWT). 2007, 40, 946-954.
48. Weiserova, E., Doudova, L., Galiova, L., Zak, L., Michalek, J., Jani, R., Bunka, F. The effect of combinations of sodium phosphates in binary mixtures on selected texture parameters of processed cheese spreads. International Dairy Journal. 2011, 21, 979-986.
49. Vercet, A., Oria, R., Marquina, P., Crelier, S., Buesa, P. Rheological properties of yogurt made with milk submitted to manothermosonication. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2002, 50, 6165-6171.
50. Tokuşoğlu, Ö. The physicochemical, microbiological, organoleptic properties and antioxidant activities of functional cream cheeses fortified with lutein. International Journal of Dairy Technology. 2013, 66(4), 527-534.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : İsmail BÖLÜK

Doğum Yeri ve Yılı : Aydın, 1986

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : ismail.boluk@adu.edu.tr

Eğitim Durumu

Lise : Aydın Adnan Menderes Anadolu Lisesi, 2001

Lisans : Pamukkale Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 2004

Yüksek Lisans : Celal Bayar Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 2013

Mesleki Deneyim

Kurum bilgisi : Malik Mc Donald's Restoran Pittsburgh/ABD, 2007-2008

Kurum bilgisi : Orhanoğlu Zeytincilik San. Tic. Ltd. Şti., 2008-2009

Kurum bilgisi : Begomvil Tur. Otel İnş. Tic. AŞ., 2009-2013

Kurum bilgisi : Adnan Menderes Üniversitesi, Köşk MYO, 2013-.....(halen)

Yayınları

Bölük, İ., Tokuşoğlu, Ö. Krem peynirlerde toplam kalite ve olası mikotoksin düzeyi üzerine yenilikçi teknoloji ultrasound etkisi. Gıda2000. 2015, 166, 36-42.

Tokuşoğlu, Ö., Bölük, İ. Gıda hassasiyeti ve gıda alerjenitesi kavramlarına bakış: Temel alerjik gıdalar ve özgün belirtileri. Manisa Gıda Tarım Hayvancılık. 2014, 9, 72-75.